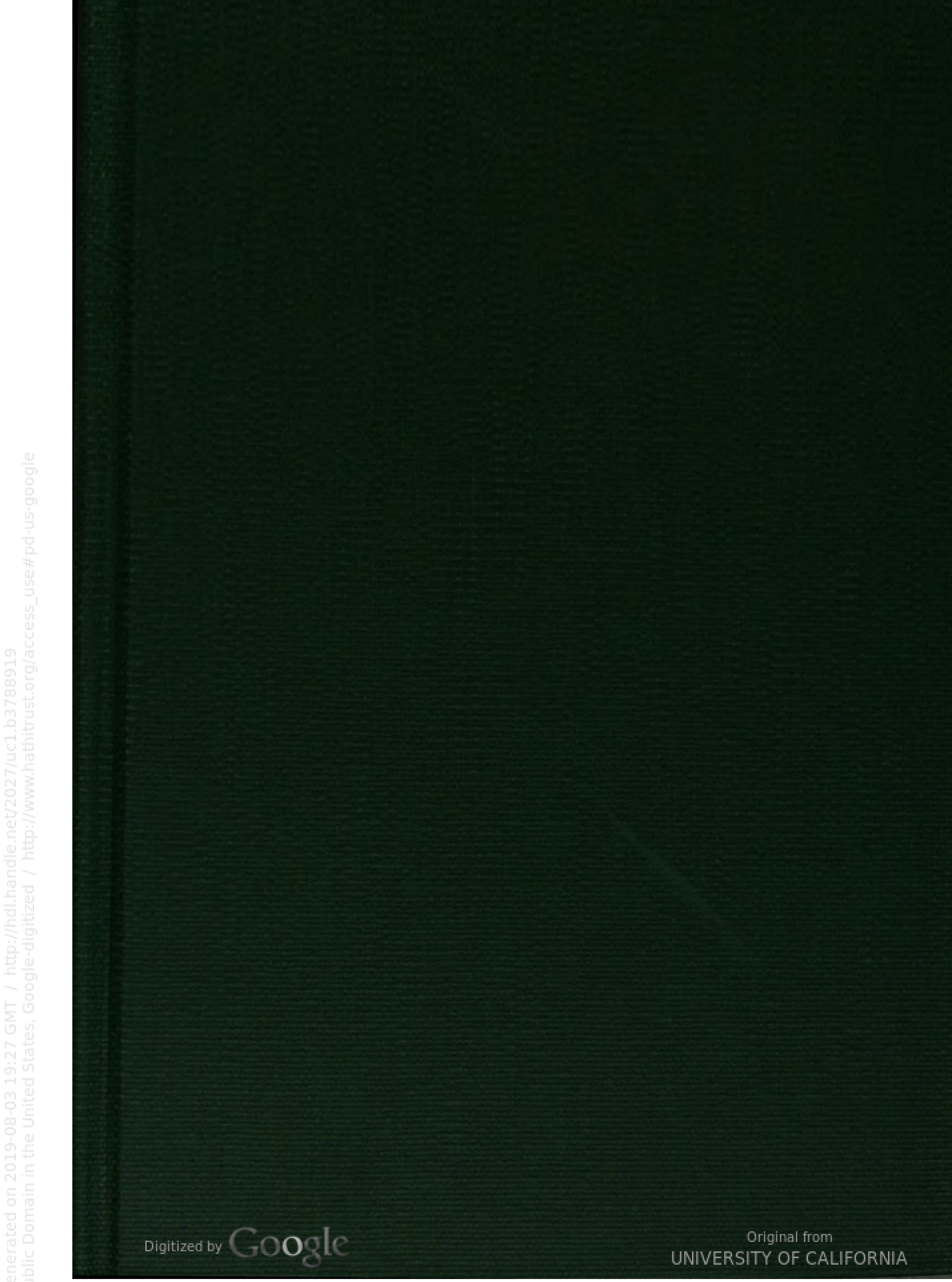
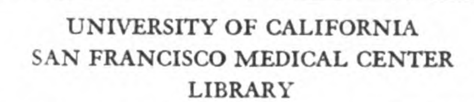
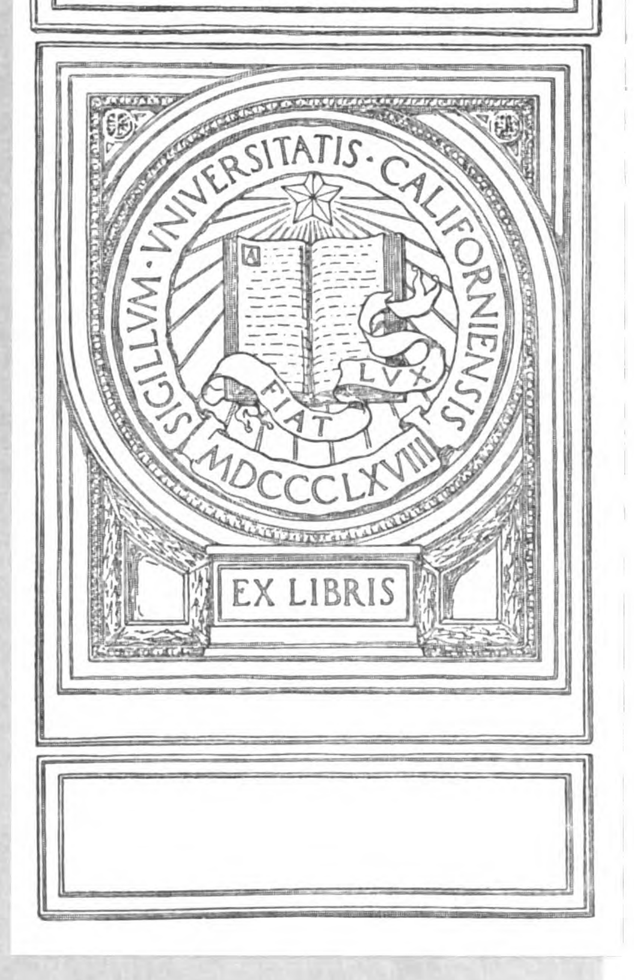





SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS


Digitized by Google

ZEITSCHRIFT

FÜR

HYGIENE

UND

INFECTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. R. KOCH, UND DR. C. FLÜGGE,

GEH. MEDICINALRATH UND
DIRECTOR DES INSTITUTES FÜR INFECTIONS-
KRANKHEITEN ZU BERLIN,

O. Ö. PROFESSOR UND DIRECTOR
DES HYGIENISCHEN INSTITUTES DER
UNIVERSITÄT BRESLAU.

SIEBENUNDDREISSIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND SECHS TAFELN.

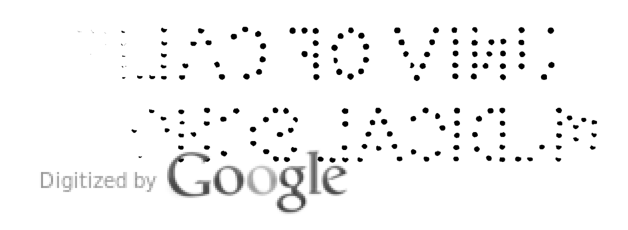


LEIPZIG,

VERLAG VON VEIT & COMP.

1901.

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.



Inhalt.

Seite





[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i/Pr.]
(Director: Prof. R. Pfeiffer.)

Untersuchungen zur Theorie der bakteriellen Infection.

(Gesetz der Infection.)

Von

Dr. **A. Radziewsky**
in Kiew.

(Hierzu Taf. I.)

Wenn bei Erkrankungen, die durch toxische Mikroben hervorgerufen werden, sehr bald die Nothwendigkeit klar wurde, das Wesen dieser Processe auf die Wirkung der Mikrobengifte zurückzuführen, so hat sich diese Erkenntniss für eine sehr grosse Gruppe von Erkrankungen, die als Infectionsprocesse im engeren Sinne aufgefasst werden, nur allmählich Bahn brechen können. Bei diesen „Allgemein-Infectionen", wie man sie manchmal zu nennen pflegt, ist der thierische Organismus am Schlusse des Processes mitunter derart von den Mikroorganismen überfluthet, dass es nicht Wunder nimmt, wenn die ganze Kette der Erscheinungen, die zur endlichen Vernichtung des befallenen Organismus führen, zunächst einer oberflächlicheren Betrachtung sich sehr einfach dargestellt hatte: mit der Intensität ihres Wachsthumes verbrauchen die Mikroben immer mehr Nahrungssubstanzen ihres Wirthes; zudem müssen sie mit ihrer Masse zur Verstopfung einer nicht geringen Anzahl blutführender Capillaren und lymphatischer Gefässe in lebenswichtigen Organen führen. In Folge dessen treten in diesem oder jenem Falle im Organismus des Wirthes Veränderungen ein, die seine Vernichtung bedingen.

Bei weiterem Studium dieser Frage erwies es sich jedoch, dass die erwähnten Momente nicht nur zur Erklärung des Todes des befallenen



Organismus genügen, sondern dass auch jene verschiedenartigen Erscheinungen, die gewöhnlich eine Infection begleiten, durch diese Factoren keine befriedigende Lösung finden. Eine Erschöpfung in Folge Mangels von Nahrungssubstanzen rafft ihre Opfer nicht so schnell dahin, wie es bei den meisten Infectionen der Fall ist; zudem liefert sie ein ganz anderes Krankheitsbild. Auch die Verstopfung der Capillaren, insoweit man sie bei Infectionen feststellen kann, genügt an und für sich weder zur Erklärung des Krankheitsbildes, noch seines Ausgangs. Dagegen hat die genauere Erforschung des Infectionsprocesses an Kranken sowohl, wie besonders auch in den Laboratorien zu dem Schlusse geführt, dass, sobald das Erscheinen des Giftes im inficirten Organismus unter der Einwirkung der parasitirenden Mikroben als ursächliches Moment angenommen wird, der Verlauf des Processes und sein Ausgang in vollkommen befriedigender Weise erklärt werden kann. Die Laboratoriumsversuche haben gezeigt, dass eine Ueberschüttung des thierischen Organismus mit Mikroben bei reinen Infectionsprocessen bei Weitem nicht immer statt hat. Auch bei Milzbrandinfectionen, die doch als Typus eines Infectionsprocesses betrachtet werden, kann der Mikrob am Schlusse des Processes nur in sehr geringer Anzahl im Blute vorhanden sein. Weiterhin hat die Laboratoriumspraxis gezeigt, dass Thiere, die der Einwirkung eines reinen Infectionsprocesses unterstehen, und bei denen der Tod erst spät eintritt, zu Grunde gehen können, ohne dass man im Stande ist, in ihrem Blute selbst vermittelst der Culturmethode die Anwesenheit der eingeführten Mikroben nachzuweisen. Mit der Annahme eines dritten Factors, eines neuen und wirksamen Vermittlers zwischen dem Mikroben einerseits und dem von ihm befallenen Organismus andererseits, namentlich in Gestalt eines löslichen Bakteriengiftes, ist ein einheitlicher Zug in unsere Auffassung der pathogenen Mikroorganismen hineingetragen worden. Damit wurde ein auffälliger Unterschied zwischen toxischen und infectiösen Mikroben (im engeren Sinne) ausgeglichen.

Was die Gifte selbst betrifft, die bei bakteriellen Erkrankungen gebildet werden, so war es zu ihrer Erforschung wichtig, ihre Herkunft und ihre Natur zu bestimmen.

Da die Bakteriologie, Dank den Arbeiten ihres grossen Begründers, auf den Boden der Lehre von den Gährungsprocessen geführt ist, so nimmt es nicht Wunder, wenn zunächst eine Analogie zwischen Giften und Gährungsproducten, deren Erscheinen in dem zu vergährenden Substrate so lange ein unerklärliches Räthsel bildete, angenommen und durchgeführt wurde. Gleichwie die Bildung von Alkohol und Säuren unzweifelhaft als Resultat jener Veränderungen zu betrachten sind, die im zu vergährenden Substrat in Folge des in ihm stattfindenden Wachsthums

von Hefe eintreten, ebenso wären auch die Infectionsgifte als Product der Zersetzung der Säfte des Organismus aufzufassen. Nach dieser Ansicht lebt der Mikrob, indem er sich im thierischen Organismus vermehrt, auf Kosten der Säfte des Organismus, entnimmt ihnen einige Körper und scheidet in sie andere aus, kurz, es spielt sich hier jener Stoffwechsel ab, der für das Leben des Mikroben nothwendig ist. Als Ausdruck dieses Vorganges sei das Auftreten der Gifte im thierischen Organismus unter dem Einflusse der in ihm parasitirenden Mikroorganismen anzusehen. Es ist wichtig zu betonen, dass nach dieser Anschauung das Erscheinen des Giftes als unmittelbares Resultat der Lebensthätigkeit des Mikroben zu betrachten ist, als unmittelbarer Ausdruck seiner blühenden, vollkommenen Lebensfähigkeit.

Wie wir später sehen werden, scheint diese Ansicht, besonders insoweit sie infectiöse Mikroben betrifft, noch jetzt die fast ausnahmslos herrschende zu sein.

Den ersten Schritt zur Anbahnung einer anderen Auffassung über die Herkunft der Mikrobengifte verdanken wir Cantani.[1] Dieser Forscher kam auf Grund seiner Versuche zu dem Schlusse, dass es ein Choleragift giebt, das unmittelbar den Körpern der Choleravibrionen anhaftet, dass dieses Gift in keinem Abhängigkeitsverhältnisse zur vegetativen Thätigkeit der Vibrionen steht. Nach seiner Meinung geben die abgestorbenen Vibrionen bedeutend mehr Gifte an die umgebende Flüssigkeit ab, als lebende Individuen. Die Ansicht, dass absterbende Choleravibrionen im Darm des Menschen ausgelaugt und resorbirt werden und in Folge dessen den Kranken vergiften, erscheint ihm weit mehr wahrscheinlich, als die Annahme, dass die lebenden Vibrionen selbst die Gifte im Darm ausscheiden.

Als weiterer Schritt nach dieser neuen Richtung erscheint die Arbeit von Buchner[2] „über die eitererregenden Stoffe in der Bakterienzelle". Buchner hat gezeigt, dass die Bestandtheile der Bakterienzelle fähig sind, pathologische Veränderungen im lebenden Gewebe hervorzurufen, namentlich dass sie die Fähigkeit besitzen, Eiterbildungen zu veranlassen.

Im gleichen Jahre zeigte Maffucci[3], dass sterile Culturen des Tuberkelbacillus bei Meerschweinchen Eiterbildung oder aber den Tod in Folge Erschöpfung herbeiführen können.

[1] Cantani, Ueber die Giftigkeit der Cholerabacillen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1886. Nr. 45.

[2] Buchner, Ueber die eitererregenden Stoffe in der Bakterienzelle. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1890. Bd. VIII.

[3] Maffucci, Ueber die Wirkung der sterilen Culturen des Tuberkelbacillus. *Centralblatt für allgemeine Pathologie.* 1890.



Im Jahre 1891 erschienen drei weitere Arbeiten, die die gleiche Frage behandeln.

Robert Koch[1] hat festgestellt, dass es möglich ist, mit Tuberkelbacillenculturen, die bei verschiedenen Temperaturgraden sterilisirt worden sind, bei Meerschweinchen Eiterungen zu provociren.

Strauss und Gamaleia[2] gelang es durch eine Reihe vollkommener, genauer Versuche zu beweisen, dass abgetödtete Tuberkelbacillenculturen, die in den Organismus eingeführt werden, fähig sind, viele jener pathologischen Veränderungen hervorzurufen, die auch von nicht abgetödteten Culturen verursacht werden, nur mit dem Unterschiede, dass die Processe, die durch abgetödtete Culturen ausgelöst werden, nicht jenen Umfang und jenen progredienden Charakter annehmen, wie er den durch lebende Culturen hervorgerufenen Processen eigen ist.

Vollkommen zu der gleichen Ansicht und zu den gleichen Schlussfolgerungen gelangte eine im selben Jahre erschienene Arbeit dreier amerikanischer Autoren. Auf Grund ihrer Versuche halten Prudden, Mitchell und Hodenphyl[3] die Annahme, dass die Bestandtheile des Bacillenkörpers selbst die für Tuberculose typischen pathologischen Veränderungen hervorrufen, für mehr wahrscheinlich, als jene Meinung, nach der die Producte der Lebensthätigkeit der Bakterien es sind, die in das umgebende Substrat ausgeschieden werden und in Folge dessen die erwähnten Erscheinungen verursachen.

Gamaleia[4], ausgehend von den Ergebnissen und Ansichten Cantani's, hat in einer im Jahre 1892 erschienenen Arbeit gezeigt, dass die Stärke des Giftes, das in den Körpern der Choleravibrionen enthalten ist, mit der Dauer der Sterilisation allmählich abnimmt, dass dagegen das Gift sich um so stärker erweist, je höher die Temperatur war, bei welcher die Sterilisation vorgenommen wurde. Ausserdem geht aus seinen Versuchen hervor, dass die Giftigkeit einer abgetödteten Cultur desto höher war, je länger die abgetödtete Cultur aufbewahrt war, d. h. mit anderen Worten, dass die Giftigkeit um so höher wird, je länger die Culturen solchen Bedingungen ausgesetzt waren, die einen Zerfall der Vibrionenleiber am meisten begünstigten.

[1] R. Koch, Fortsetzung der Mittheilungen über ein Heilmittel gegen Tuberculose. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1891. Bd. X.

[2] Strauss und Gamaleia, Contribution à l'étude du poison tuberculeux. *Archives de médecine expérimentale.* 1891.

[3] Prudden, Mitchell and Hodenphyl, Studies on the action of dead bacteria in the living body. *New York medical Journal.* 1891.

[4] Gamaleia, Recherches expérimentales sur le poison du choléra. *Archives de médecine expérimentale.* 1892.

Als klassischer Versuch zur Lösung der Frage über die Herkunft des Bakteriengiftes können die Untersuchungen von R. Pfeiffer gelten, die im Jahre 1892 veröffentlicht wurden. Nachdem er festgestellt hat, dass die Filtrate 14tägiger Culturen von Vibrio Gamaleia eine bedeutend geringere Giftwirkung besitzen, als nicht filtrirte ausgekochte Culturen, gelangte R. Pfeiffer nun auf Grund einer ganzen Reihe von Versuchen mit Vibrio Massaoua zu dem völlig sicheren Schlusse, dass ein intensiv wirkendes specifisches Gift mit den Körpern der Vibrionen verbunden ist, dass die Vibrionenleiber selbst die Quelle des Choleragiftes in den Culturen abgeben, dass „sie (die Vibrionen) das Toxin in oder an ihrer Leibessubstanz schon mit sich führen".

Es erwies sich, dass die Symptome der Erkrankung, die bei einem Thier durch lebende oder abgetödtete Culturen hervorgerufen werden, nicht nur unter einander übereinstimmen, sondern dass sie auch lebhaft an das Bild des Stadium algidum der menschlichen Cholera erinnern.

Ein genaues Studium der Processe, die bei einem mit lebenden Vibrionen inficirten Thiere eintreten, hat gezeigt, dass der Inhalt der Bauchhöhle nach dem Tode des Thieres manchmal völlig steril befunden werden kann; seltener kommt es vor, dass die Impfung der Nährböden Wachsthum von wenigen Colonieen ergiebt, hier und da sieht man auch eine üppige Cultur aufgehen. Auf Grund dieser Beobachtungen musste die Annahme gerechtfertigt erscheinen, „dass die in die Bauchhöhle eingeführten Mikroben für gewöhnlich rasch abgetödtet werden, was an sich nicht so wunderbar ist, seit wir wissen, dass das Serum der verschiedensten Thierspecies gerade die Choleravibrionen sehr rasch vernichtet."

Um die Frage zu beantworten, was im gegebenen Falle eigentlich die Rolle des Toxins spielt, die Producte des Stoffwechsels der Vibrionen oder aber die Bestandtheile ihrer Leibessubstanz, griff R. Pfeiffer zur Inoculirung von Culturen, die durch Chloroform abgetödtet worden waren. Es zeigte sich, dass die Dosis einer lebenden und diejenige einer todten Cultur nicht auffällig verschieden von einander waren, wenn man in Betracht zieht, dass bei der Bestimmnng der tödtlichen Dosis einer abgetödteten Cultur die Thatsache berücksichtigt werden muss, „dass bei der Einverleibung einer lebenden Cultur zunächst eine rapide Vermehrung der Bakterien eintreten muss, die so lange dauert, bis die Beimischung des transsudirenden Serums gross genug wird, um entwickelungshemmend und dann abtödtend zu wirken".

---

[1] R. Pfeiffer, Untersuchungen über das Choleragift. *Diese Zeitschrift.* 1892. Bd. XI.



Seine Untersuchungen fasst R. Pfeiffer dahin zusammen, dass in jungen aëroben Culturen des virulenten Vibrio ein specifisches Gift enthalten ist, das sich durch ein ungewöhnlich starkes, toxisches Vermögen auszeichnet. Dieses primäre Gift befindet sich in einem sehr engen Zusammenhang mit den Körpern der Vibrionen und stellt möglicher Weise einen wichtigen Bestandtheil ihrer Leibessubstanz dar. Das erwähnte Toxin erleidet scheinbar keine Veränderungen unter der Einwirkung von Thymol, Chloroform und Austrocknung. Durch Kochen, Fällen mit Alkohol absol. und einer gesättigten Lösung neutraler Salze kann das primäre Gift in ein secundäres übergeführt werden, welch letzteres erheblich schwächer wirksam ist, als das erstere.

Wenn wir uns der Frage zuwenden, welche Wirkung die von uns angeführten Arbeiten — die letzte gehört dem Jahre 1892 an — auf die allgemeinen Vorstellungen der Aerzte über die Herkunft des Bakteriengiftes ausgeübt haben, so kommen wir zu folgenden Ergebnissen.

Podwyssozky[1] spricht sich nach sorgfältigem Studium des einschlägigen Materials wie folgt aus: „So lange die Bakterien leben, können die giftigen Nucleïne kaum toxisch auf das Gewebe wirken, da sie von der Leibessubstanz der Bakterien untrennbar sind und ohne Zerstörung des Bakterienkörpers sich zu befreien und in einen löslichen Zustand überzugehen nicht im Stande sind. Die Pathogenität der Bakterien, die innerhalb eines Gewebes leben, muss hauptsächlich durch jene giftigen Producte bedingt sein, welche in dem Maasse, wie sie von der Mikrobenzelle gebildet sind, in das Gewebe diffundiren können.“ Nach dem Sinne dieser Ansicht heisst es, dass das Infectionsgift als diffundirbares Product der „lebenden“ Zelle aufzufassen ist. Das stärkste Gift tritt nicht in die Säfte des Organismus über, da es im Organismus nur zur Wirkung gelangen kann, wenn der Mikrob abstirbt.

Kruse[2] spricht sich vollkommen bestimmt in dem Sinne aus, dass die Bakteriengifte Producte der Destruction und Zersetzung sind, welche im Organismus in Folge des Wachsthums der Mikroben stattfinden. („Nur ein anderer Ausdruck für ‚Bakteriengifte‘ ist es schliesslich, wenn man die schädlichen Allgemeinwirkungen der Septicämieerreger auf Zersetzungssoffe, die sie durch ihren Vegetationsprocess im Körper erzeugen, zurückführt.“)

Ziegler[3] äussert sich in der letzten (1898) Ausgabe seines bekannten Lehrbuches wie folgt: „Die schädlich wirkenden sind Producte der Bakterien

[1] Podwyssozky. *Osnovy odtchej pathologiji.* 1894.

[2] Kruse in: *Die Mikroorganismen* von Flügge. 1896. I. Th. S. 283.

[3] Ziegler, *Lehrbuch der allgemeinen und speciellen pathologischen Anatomie.* Allgemeine Pathologie. 1898. Bd. I. S. 44—45.



selbst. Alle Bakterien, auch die nicht pathogenen, verursachen innerhalb des Nährsubstrates, in dem sie wachsen, gewisse als Gährungs- und Fäulnissvorgänge bezeichnete Umsetzungen, die in engster Abhängigkeit von ihrer Lebensfähigkeit und ihrer Vermehrung stehen. Unter diesen Umsetzungsformen sind manche für den Organismus höherer Thiere und des Menschen schädlich, indem sie theils örtliche Gewebsdegenerationen und Entzündungen, theils Blutveränderungen, theils allgemeine Vergiftungserscheinungen, welche sich in Störungen der Nerven-, Herz- und Athmungsfunctionen äussern, verursachen können."

Günther[1] äussert sich in der letzten Ausgabe seines Leitfadens in folgender Weise: „Es liegt in der Natur der Sache, dass wohl mit jeder Infection eine Intoxication verbunden ist. Man könnte sich allerdings Infectionskrankheiten denken, bei denen eine so massenhafte Vermehrung der Bakterien in dem Blute stattfindet, dass die Bakterien schliesslich ein physikalisches Hinderniss für den Blutumlauf abgeben, dass das Thier rein und ausschliesslich an der Vermehrung der Bakterien stirbt. Ob eine solche Vermehrung aber in der That möglich ist, ohne dass dabei auf das Thier irgendwie schädlich einwirkende und den Verlauf der Erkrankung beeinflussende Stoffwechselproducte gebildet werden, ist sehr die Frage. In den allermeisten Fällen von Infection tragen die giftigen chemischen Körper, welche die Bakterien bei ihrem Wachsthum im Thierkörper bilden, sehr wesentlich das Ihrige zu der gesammten Erkrankung bei."

In der soeben erschienenen Arbeit, die die allgemeinen Elemente der Bakteriologie darlegt, resumirt Gamaleia[2] seine Vorstellungen über die Herkunft der Bakteriengifte in folgender Weise: „Was nun die Entstehung der Toxine anbelangt, so zweifelt jetzt Niemand mehr, dass sie aus dem Bakterienkörper entstehen, wie ich bereits im Jahre 1889 festgestellt habe, und nicht ein Product der Veränderung des Nahrungseiweisses sind. . . . Die Abscheidung der Gifte durch die Bakterien hängt natürlich von der Art ihrer Nahrung ab" (S. 105). Und weiter: „Natürlich scheiden die Bakterien Gifte ab, nicht um das Blut . . . oder das Protoplasma der Nervenzellen der Thiere zu coaguliren." (S. 106.)

Aus den angeführten Auszügen ist ersichtlich, dass in Anschauungen der Pathologen über die Herkunft der Bakteriengifte theilweise eine Wendung eingetreten ist.

Während einige Autoren, wie Krause, Ziegler, Günther auf dem früheren Standpunkte verharren, dass die Bakteriengifte als Resultat der

[1] Günther, *Einführung in das Studium der Bakteriologie.* 1898.
[2] Gamaleia, *Elemente der allgemeinen Bakteriologie.* Berlin 1900.



Umsetzungen zu betrachten sind, die durch die Mikroben in dem Substrat, in welchem sie wachsen, verursacht werden — gleichviel ob das Substrat ein künstliches ist, oder von thierischem Organismus dargestellt wird —, so sprechen sich **Podwyssozky** und namentlich **Gamaleia** in dem Sinne aus, dass die wirksamsten Gifte von der Bakterienzelle selbst gebildet werden.

Was die Frage betrifft, in welcher Weise die von den Bakterienzellen producirten Gifte in die Säfte des Organismus in Lösung übergehen, um schliesslich die für den Organismus wesentlich wichtigsten Zellenelemente zu vergiften, so giebt es darüber, als Satz von allgemeinem Charakter, nur eine Ansicht: Die Bakterien selbst scheiden das in ihrem Innern gebildete Gift ab. Das Freiwerden des Giftes, sein Uebergang in Lösung ist nach dieser Auffassung eng verbunden mit der lebhaften, activen Thätigkeit der Mikrobenzellen selbst und erscheint als Folge, als Ausdruck, als Beweis ihrer vollen Lebensfähigkeit. Anders könnte es ja nicht sein.

Das Spiel der drei Grundelemente, die in dem Begriff Infection eingeschlossen sind, Mikrob, Mikrobengift und Organismus, kann mit Rücksicht auf die auf festgelegte Begriffe und Beobachtungen gegründete Thatsache, dass die Infectionsmikroben im Laufe der Infection sich vermehren, nur dann aufgefasst werden, wenn man annimmt, dass der Mikrob selbst je nach seinem Wachsthum activ Gifte ausscheidet, dass er diese Giftproduction als einen nothwendigen Akt zur Fortsetzung seines eigenen Lebens vollzieht. Die Thatsache der progressiven Vermehrung der Mikroben im Verlaufe der Infection machte eine solche Annahme um so mehr zur unbedingten Nothwendigkeit, als in der Bakteriologie der Gährungen schon längst die Ausscheidung der Fermente durch die Gährungszellen zugegeben ist, welche erstere verschiedene Arten Zucker, Alkohol u. s. w. bilden.

Ganz für sich stehend, im Widerspruche mit den verallgemeinernden Anschauungen über die Art des Ueberganges des Bakteriengiftes in die Säfte des Organismus, ist die von uns erwähnte Ansicht von **Cantani** und **R. Pfeiffer**, welche namentlich Cholerainfectionen (Intoxicationen) bei Meerschweinchen und beim Menschen betrifft. Nach **R. Pfeiffer**[1] wird das Gift nicht von den Vibrionen selbst in dem Maasse ihres fortschreitenden Wachsthums gebildet, sondern es entsteht in Folge des im Laufe der Infection stattfindenden Unterganges von Bakterien. Zu dieser Ansicht gelangte er auf Grund der oben erwähnten Thatsache der postmortalen Sterilität des Peritonealinhalts eines Meerschweinchens, dem eine

[1] R. Pfeiffer, *Diese Zeitschrift*. Bd. XI. u. XVI.



gerade tödtliche Dosis Choleravibrionen inoculirt worden ist. Auf die Einwendung Gruber's[1], dass es ihm nie gelungen sei, einen sterilen Befund der Peritonealhöhle eines Meerschweinchens unter den gegebenen Bedingungen festzustellen (was natürlich auf die verschiedenen technischen Handgriffe und auf die Verschiedenheit der Virulenz der verwendeten Culturen zurückzuführen ist), erwiderte R. Pfeiffer mit neuen Beweisen dafür, dass der Untergang der Vibrionen innerhalb des thierischen Organismus unbedingt angenommen werden muss, und dass es für das Freiwerden des Vibrionenleibgiftes geradezu die Bedingung ist. R. Pfeiffer sieht sich folglich gezwungen, die Thatsache anzunehmen, dass ein partieller Untergang von Vibrionen auch in jenem Falle stattfindet, wenn der Peritonealinhalt eines Meerschweinchens nach dem Tode desselben sich nicht als steril erweist. — Was die Kräfte des Organismus anbetrifft, die eine abtödtende Wirkung auf die Vibrionen ausüben, so sind es nach der Meinung R. Pfeiffer's bei einem Meerschweinchen die Bestandtheile des Blutserums, die in die Bauchhöhle gelangen; bei der menschlichen Cholera, welche Pfeiffer „die Infection des Darmepithels durch Choleravibrionen" nennt, findet der Untergang der Vibrionen in Folge ihrer Berührung mit dem „lebenden Gewebe" statt. Die Baktericidität des Blutserums eines normalen Thieres gegenüber Choleravibrionen war schon zu jener Zeit eine feststehende Thatsache.

Aber trotz dieser Thatsachen ist die Auffassung Pfeiffer's, dass ein Untergang von Vibrionen bei einer Vibrioneninfection — und gleichfalls nach der Analogie auch derselbe von Typhusbakterien bei einer Typhusinfection — mit Nothwendigkeit angenommen werden muss, und ebenso seine Ansicht, dass wesentlich auf diesem Wege der Uebergang des mit der Leibessubstanz der Mikroben verbundenen Vibrionengiftes in die Säfte des Organismus stattfindet, auf andere Mikroorganismen nicht ausgedehnt worden. Noch jetzt, 6 bis 8 Jahre nach Veröffentlichung der Versuche Pfeiffer's, sprechen die Autoren gerade wie zuvor von „der willkürlichen Ausscheidung des Giftes durch Infectionsbakterien". Dafür kann theilweise eine Erklärung gefunden werden. Die Cholera, die experimentelle sowohl wie die natürliche, stellt eine Krankheit sui generis dar. Sie entspricht mehr dem Begriff der „Intoxication" als demjenigen „der Infection im engeren Sinne". Bei einer natürlichen Cholera dringt der Choleravibrio nicht tiefer als in die epitheliale Schicht des Darmes ein; dasselbe gilt auch in Bezug auf die bei den Thieren nach der Koch'schen Methode experimentell erzeugte Cholera. Die intraperitoneale Einverleibung von Choleravibrionen, die manchmal ein volles Bild des typischen „Infections-

[1] Gruber, *Archiv für Hygiene.* Bd. XV.



processes im engeren Sinne" liefert, entspricht nicht ganz jenen Bedingungen des natürlichen Parasitismus, wie sie sonst in Beziehung auf Choleravibrionen statt haben. Das Leben in den Säften und im Blute des Organismus ist dem Choleravibrio biologisch allzufremd und nur, indem man grosse Mengen injicirt, kann man den Vibrio nach dem Tode des Thieres auch im Blut vorfinden und damit einen eigentlichen Infectionsprocess erzielen. Wie Pfeiffer und Wassermann[1] sagen: „man hat es durch genaue Dosirung vollständig in der Hand, die Meerschweinchen sterben zu lassen mit massenhaften Vibrionen in der Bauchhöhle und selbst im Blut, oder mit bacillenarmen oder sogar sterilem Peritonealexsudat." Die rein infectiösen Mikroben verhalten sich auffällig anders in dieser Beziehung. Wie genau man auch die Dosirung des Virus vornehmen mag, so ist doch in der allergrössten Anzahl von Fällen zu constatiren, dass nicht nur der Peritonealinhalt nach dem Tode des Thieres nicht steril ist, sondern dass der Mikrob stets auch im Blute nachgewiesen werden kann. Ausserdem wird Sterilität der Gewebe und Säfte in diesen Fällen nur dann beobachtet, wenn das Thier 2 bis 3 Tage überlebte, unter keinen Umständen aber nach Verlauf einiger Stunden oder aber, nach Ablauf von nur 1 Tage, wie das nach den Versuchen Pfeiffer's bei Cholera der Fall ist. Aus dem Umstand, dass der Choleravibrio bei intraperitonealer oder intravasculärer Einführung in ein nicht „für ihn geschaffenes" Substrat geräth, ergiebt sich die Baktericidität des Blutserums ihm gegenüber, und im ferneren ist dadurch die verhältnissmässig unschwer zu erlangende Möglichkeit geboten, einen sterilen Befund der Säfte und Gewebe nach dem Tode des Thieres herbeizuführen, was aber als Folge der leichten Zerstörbarkeit des Mikroben im thierischen Organismus sich darstellt.

Es ist bekannt, dass man bei den wirklichen Infections-, d. h. septicämischen Mikroben mit Leichtigkeit einen ungewöhnlich hohen Grad der Virulenz erzielen kann. So ist von uns in Bezug auf Bact. coli vermittelst einfacher Passagen durch den Kaninchenkörper eine Virulenz von 0·00001 einer Agarcultur erreicht worden; bei Diplococcus lanceolatus haben wir in einem Falle durch Passagen von Kaninchen zu Kaninchen die tödtliche Dosis des Blutes auf 0·000001 ^{ccm} herabzudrücken vermocht; ebenso hat Marmorek[2] eine gleiche hohe Virulenz bei Streptococcus pyogenes erzielt. Eine derartige Virulenz konnte bei Choleravibrionen, soweit uns bekannt ist, trotz aller möglichen Versuche nicht erlangt werden. Die allerhöchste Virulenz, die bisher beschrieben worden ist,

---

[1] R. Pfeiffer u. A. Wassermann, *Diese Zeitschrift.* Bd. XIV.

[2] Marmorek, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895.

betrug $^1/_{10}$ bis $^1/_{15}$ Oese. Das ist vollkommen begreiflich, wenn man ins Auge fasst, dass der Choleravibrio unter natürlichen Bedingungen nicht als wirklicher Parasit der Säfte des Organismus gelten kann, das seiner Natur eine Anpassung an die Säfte des Thierkörpers fremd ist, bezw. dass er in Bezug auf den thierischen Organismus nicht als vollkommen lebenskräftig betrachtet werden kann.

Den grössten Abschnitt der Bakteriologie der pathogenen Mikroorganismen bildet das Capitel der septicämischen Mikroben. Vor allem muss die medicinische Bakteriologie mit ihnen rechnen. Wir haben auf den capitalen Unterschied hingewiesen, der zwischen den septicämischen und eigentlichen infectiösen Mikroben einerseits und den Mikroben vom Typus der Choleravibrionen andererseits herrscht.

Aus dem Gesagten wird es begreiflich, warum einer sofortigen Uebertragung der von Pfeiffer bezüglich der Vibrionen festgestellten Facta und einer Ausdehnung seiner Ansichten über die Art des Ueberganges der Bakteriengifte in die Säfte des Organismus auf andere Mikroben, vor allem aber auf die grosse Gruppe der septicämischen Mikroben, ernsthafte Hindernisse entgegentreten mussten. Wie konnte man denn ohne Weiteres annehmen, dass die Mikroben, als deren charakteristischer Zug ihre progressive Vermehrung, ihr endloses Wachsthum in den thierischen Säften erscheint in demselben Organismus zugleich ihren Untergang finden sollten, da ja doch in der Thatsache ihrer unaufhörlichen Vermehrung der Beweis dafür geliefert war, dass nicht das Substrat ihrer, sondern sie sich des Substrates bedienten, indem sie es in gründlichster Weise zu ihrer Ernährung ausnützten? Wie konnte man das annehmen in Bezug auf Streptokokken, die in einem Substrat, das zu $^3/_4$ aus Blutserum und $^1/_4$ aus Bouillon besteht, besser wachsen als in reiner Bouillon; — in Bezug auf Diplococcus lanceolatus, welcher in Bouillon nur wenig wächst, dagegen optimal im Blutserum von Kaninchen gedeiht und der sich deswegen als Parasit par excellence des Kaninchen-Blutes documentirt? Worin machen sich im gegebenen Falle die baktericiden Eigenschaften des Blutes geltend, wenn 0·00001 einer Agarcultur von Bakt. coli, einem Meerschweinchen inoculirt, genügt, um den Organismus des Thieres mit einer Masse von Bakterien zu überschwemmen, während dem thierischen Organismus doch nur wenige Exemplare des Mikroben einverleibt worden sind?

Nachdem R. Pfeiffer festgestellt hatte, dass die Leibessubstanz des Vibrio ein Gift von einem hohen toxischen Effect enthält, diente ihm, wie schon ausgeführt, weiterhin für die Formulirung seiner Anschauung über die Art des Ueberganges dieses Giftes in die Säfte des Organismus die Thatsache als Stütze, dass der Peritonealinhalt eines Meerschweinchens



nach intraperitonealer Einverleibung einer gerade tödtlichen Dosis des Choleravirus steril befunden wird. Wenn diese Beobachtung bei Vibrionen mit Leichtigkeit gemacht werden kann, so verhält sich die Sache ganz anders bei den septicämischen Mikroben. Bedient man sich bei derartigen Experimenten eines schwach virulenten Mikroben, so kann zufällig eine Sterilität der Gewebe und Säfte eintreten; bei der Verwendung von Culturen von hoher oder mittlerer Virulenz jedoch ist das Resultat ein vollkommen entgegengesetztes. Man mag die tödtliche Dosis so sorgfältig als nur möglich bestimmen, stets werden nach dem Tode des Thieres im Blut und im Peritoneum Mikroben enthalten sein.

Berücksichtigt man das Angeführte, so wird es begreiflich, warum jene Autoren, die die enge Abhängigkeit von Bakteriengiften und Bakterienzellen vertreten, annehmen, dass die Infectionsmikroben Gifte „willkürlich ausscheiden", die das Thier bei der Infection tödten.

In der That, wir haben schon in einer früheren Arbeit[1] bewiesen, dass auch hinsichtlich eines speciell septicämischen Mikroben, wie Bact. coli es ist, unbedingt angenommen werden muss, dass bei einer tödtlichen Infection neben der Vermehrung des Mikroben auch sein Absterben, seine Zerstörung und Auflösung in den Säften des Organismus stattfindet, dass der durch diesen Mikroorganismus hervorgerufene Infectionsprocess rücksichtlich des bakteriellen Erregers eine complicirte Erscheinung darstellt, die sich aus zwei entgegengesetzten Vorgängen zusammensetzt. Präciser ausgedrückt, es gelang uns, den Nachweis zu liefern, dass jener bis in letzter Zeit noch als giltig betrachtete Lehrsatz, welcher besonders die rein septicämischen Mikroben betrifft und der besagt, dass der Mikrob während einer Infection sich nur vermehrt, nicht den Thatsachen entspricht; vielmehr muss diese Aufstellung einer anderen Platz machen, jener nämlich, dass mit der Vermehrung des Mikroben auch eine Zerstörung und ein Absterben desselben einhergeht.

Der sterile Befund der Säfte und Gewebe des thierischen Organismus bei einer septicämischen Infection konnte nicht als Beweis für die Richtigkeit des oben erwähnten Lehrsatzes gelten, da bei hoch virulenten Mikroben eine solche Sterilität nie und nimmer zu erzielen ist. Man musste daher eine Methode ausfindig machen, vermittelst der es gelingt, im inficirten thierischen Organismus neben völlig normalen, sich vermehrenden Individuen auch die getödteten und zerstörten Exemplare nachzuweisen, falls solche vorhanden sind. Eine solche Methode fanden wir in der eine Stunde dauernden Färbung der Präparate mit Ziehl'schem

[1] A. Radziewsky, Beitrag zur Kenntniss des Bacterium coli. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVI. — *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIV.



Carbolfuchsin, das mit destillirtem Wasser im Verhältniss 1:30 verdünnt wurde. Bei Anwendung dieser Methode färbt sich auch dasjenige gut, was sich sonst mit dem gewöhnlich benutzten Methylenblau nicht färbt, d. h. man erreicht mit dieser Tinction jene Differenzirung, die Methylenblau zu leisten nicht vermag. Methylenblau besitzt intensive tinctorielle Eigenschaften gegenüber Exsudaten, seine Mängel jedoch bestehen darin, dass es für unsere Zwecke wenig differencirt und allzu unklare und verschwommene Bilder liefert. So bringt denn im Resultat die Färbung mit Methylenblau absolut nicht dasjenige zur Erscheinung, was mit völliger Deutlichkeit zum tinctoriellen Ausdruck kommt, wenn man das von uns benutzte Verfahren anwendet.

Vermittelst dieser Methode konnten wir uns leicht überzeugen, dass im ganzen Verlaufe des Infectionsprocesses neben den normalen Individuen auch zerstörte und deformirte Exemplare vorhanden sind, letztere Erscheinung hauptsächlich in der zweiten Hälfte der Infection. Besonders interessant war die Beobachtung, dass die destructive Kraft des Organismus mit dem weiteren Fortschreiten der Infection anwächst und dass das Auftreten und Anwachsen dieser zerstörenden Kräfte in Bezug auf Bacterium coli, das die ungewöhnlich hohe Virulenz von 0·00001 einer Agarcultur als letale Dosis besitzt, in äusserst intensiver Weise stattfindet. Daraus musste geschlossen werden, dass wir es mit Kräften des Organismus zu thun haben, die nur in Folge des Infectionsprocesses selbst ausgelöst werden und zur Zerstörung der im Organismus sich vermehrenden Mikroben dienen.

Als Kriterium für die zuverlässige Leistungsfähigkeit der erwähnten Methode diente uns jene Thatsache, dass durch Chloroform abgetödtete Culturen von Bacterium coli, die sich sonst völlig wie lebende Mikroben färbten, ihr Tinctionsvermögen in Bezug auf Methylenblau gänzlich einbüssen, sobald sie einem Meerschweinchen in's Peritoneum eingeführt werden und daselbst 30 Minuten bis 1 Stunde verweilen, dass sie aber hingegen nach der von uns erwähnten Methode sich sehr blass färben und in dem Färbungston sowie in der Gestaltung der Mikroben ein Bild liefern, das vollkommen identisch mit demjenigen ist, welches bei tödtlichen Infectionen mit lebenden Mikroben beobachtet wird. Das rasche und vollständige Verschwinden der durch Chloroform abgetödteten Individuen in der Peritononealhöhle sprach für ihre gänzliche Auflösung. Folglich musste auf Grund der Identität der mikroskopischen Bilder, die man bei intraperitonealer Inoculation sowohl von lebenden wie von abgetödteten Mikroben erhält, geschlossen werden, dass die lebenden Mikroben im Verlaufe der Infection abgetödtet und zerstört werden und schliesslich einer gänzlichen Auflösung verfallen.



Haben nun die erwähnten Bilder, welche die Destruction der Mikroorganismen während der Infection demonstriren, unumstösslich die von uns angegebene Complicirtheit des Infectionsprocesses bewiesen, so folgt daraus weiterhin mit Sicherheit die Thatsache des Freiwerdens des Giftes aus dem Mikroorganismus, seines Ueberganges in Lösung.

Daneben erwies sich Bact. coli als ein besonders geeigneter Mikroorganismus, um jene sich an ihm abspielenden morphologischen Veränderungen kennen zu lernen, in Folge deren die Stäbchenform in Kugelgestalt übergeführt wird (Pfeiffer'sches Phänomen). Es zeigte sich, dass diese Kügelchen nicht dem ganzen Körper des Mikroben entsprechen, sondern die in ihm mehr oder weniger central gelegenen runden Körper darstellen, welche sich den destructiven Kräften gegenüber durch ihre grössere Resistenzfähigkeit auszeichnen. Nach der Zerstörung der umliegenden Partieen des Stäbchens werden die runden Körper frei, schwellen an und entsprechen von diesem Moment an vollkommen den Kügelchen des Phänomen Pfeiffer.

Nachdem wir vermittelst der von uns angegebenen Methode, die auch in Fällen der allerstärksten und bakterienreichsten Coli-Infection nicht versagte, festgestellt hatten, dass bei einer tödtlichen Coli-Infection die Neubildung der baktericiden Substanzen des thierischen Organismus unter dem Einfluss einer infectiösen Substanz anerkannt werden muss, machten wir es uns im Weiteren zur Aufgabe, mit Hülfe unseres Verfahrens die tödtlichen Infectionen zu studiren, die durch andere, besonders durch die sogen. Infectionsmikroben im engeren Sinne verursacht werden, um uns auf diesem Wege zu überzeugen, ob Grund vorhanden ist, dem Lehrsatz über die Zerstörung der Mikroben im Verlaufe einer tödtlichen Infection einen allgemeinen Charakter zu verleihen.

In vorliegender Arbeit werden wir die Resultate unserer Untersuchungen über Infectionen mit Vibrio cholerae asiaticae, Bacillus pyocyaneus, Diplococcus lanceolatus, Milzbrandbacillus und Streptococcus pyogenes mittheilen.

Diese Arbeit ist von uns im Institute des Hrn. Prof. Pfeiffer ausgeführt worden. Wir nehmen dabei Gelegenheit, Hrn. Prof. Pfeiffer unsere aufrichtige Dankbarkeit auszusprechen sowohl für den liebenswürdigen Empfang in seinem Laboratorium, wie für die Durchsicht unserer Präparate.



II.

Was den Vibrio cholerae asiaticae anbetrifft, so haben wir jene Veränderungen zum Gegenstand des Studiums gemacht, die dieser Mikroorganismus bei intraperitonealer Einführung einer tödtlichen Dosis erleidet. Die Dosen, die wir anwandten, gingen bis zu $^1/_4$ Oese einer Agarcultur. Indem wir möglichst genaue Ergebnisse anstrebten, benutzten wir ausschliesslich zwölfstündige Culturen. Damit beabsichtigten wir die Degenerations- und Deformationsformen nicht völlig lebensfähiger und kräftiger Individuen von vornherein auszuschalten. Eine solche Destructionstendenz konnte ja leicht eintreten in einem Nährsubstrat, das den Vibrionen völlig fremd war. Die Wahl ganz junger Culturen zu unseren Versuchszwecken bot einige Sicherheit dafür, dass die Zahl dieser nicht vollkommen lebensfähigen Individuen auf ein Minimum beschränkt war. Als Suspensionsflüssigkeit benutzten wir Peptonbouillon, welche in der Quantität von nicht mehr als $^1/_3$ ccm in die Bauchhöhle der Meerschweinchen (250 bis 350 grm Körpergewicht) eingeführt wurde. Zur Färbung der Präparate benutzten wir Ziehl'sches Carbolfuchsin, mit Aq. dest. 1 : 30 verdünnt, bei 1 stündiger Einwirkung derselben. Daneben benutzten wir auch die Färbung mit Ehrlich'schen Gentianaviolett 1 : 30 mit Aq. dest. verdünnt und gleichfalls bei 1 stündiger Einwirkung der Farbe.

Es muss zwar zugegeben werden, dass die von uns erwähnte Ziehl'sche Carbolfuchsinlösung auch völlig normal aussehende Vibrionen nach 1 stündiger Einwirkung der Farbe nicht in einem solchen gesättigten, violettrothen, lebhaften Tone färbt, wie das gegenüber Bact. coli, typhi, anthracis, Diplococcus lanceolatus u. s. w. der Fall ist. Trotzdem kann man diese Tinctionsmethode nicht gut beim Studium der Cholerainfection entbehren, indem sie Bilder von äusserster Deutlichkeit und Klarheit in vollkommener einwandfreier Art liefert. Alles für unsere Zwecke Wesentliche kann man mittels Fuchsinfärbung erlangen, jedoch ist es schwer, bei diesem Färbungsverfahren die Uebergangsformen von den Stäbchen- und Kommaformen zur Kugel zur färberischen Darstellung zu bringen. Bei Anwendung von Gentianaviolett ist die Möglichkeit geboten, diese Uebergangsformen gefärbt zu bekommen, wobei aber der Uebelstand eintritt, dass das Gentianaviolett mehr oder minder intensiv den Untergrund mitfärbt. Es ist daher am Platze, zur besseren Orientirung beide Färbungsmethoden bei dem gleichen Untersuchungsmaterial anzuwenden, indem das Fuchsin den Untergrund gar nicht färbt. In Berücksichtigung dieser Thatsachen haben wir bei unseren Präparaten stets eine Parallelfärbung mit Ziehl'schem Fuchsin und Gentianaviolett vorgenommen.



Die Entnahme des Peritonealinhaltes geschah alle $^1/_2$ Stunde während der ganzen Dauer der Infection nach der Methode von Issaeff.

Alle unsere Versuche ergaben das gleiche Resultat. In jedem Präparate, zu dem das Material entweder 1 Stunde nach Einführung des Virus oder im Moment des Todes (während die Herzaction noch nicht erloschen war) entnommen worden war, konnte man neben völlig regelmässigen, normalen Komma- oder Stäbchenformen eine Menge deformirter und zerstörter Exemplare constatiren. Vor allem waren Kugeln von mehr oder minder runder Form sichtbar. Der Durchmesser dieser Kugeln übertraf 6 bis 8 Mal den Querdurchmesser der umliegenden normal gefärbten Stäbchen- oder Kommaformen. Wir befanden uns da einem stark ausgeprägten Pfeiffer'schen Phänomen gegenüber. Neben solchen grösseren Kügelchen waren auch kleinere vorhanden in allen Uebergangsformen, deren kleinste eine Grösse dargeboten, die man im mikroskopischen Bilde etwa als Punkt bezeichnet. Sowohl die grossen wie die kleinsten Kügelchen färbten sich sehr deutlich.

Neben solchen Kügelchen, die nach einstündiger Einwirkung der Farbe gut gefärbt erschienen, gab es auch Exemplare von umfangreicheren Dimensionen, die sich von den ersteren sowohl durch Form wie durch tinctorielle Eigenheiten auszeichneten. Der Form nach wichen sie von der mehr oder minder regelmässigen runden Bildung ab; sie wurden eckig, aufgebläht, zeigten Fortsätze, dehnten sich mehr oder weniger nach einer Richtung aus und gestalteten sich mehr und mehr unregelmässig. In dem Maasse, wie diese Kügelchen in ihrer Gestaltung von der runden Form abwichen, nahm auch ihre Tinctionsfähigkeit ab, und ihre Aehnlichkeit mit jenen Eiweissklümpchen, welche auf dem schwach mit Gentianaviolett gefärbten Untergrunde sichtbar waren, wurde nach Färbungston und Form immer grösser. Es kann kein Zweifel darüber bestehen, dass dieser Untergrund grösstentheils auf Kosten dieser in ihrem speciellen Aufbau zerstörten und in Zerfall gerathenen Kügelchen sich gebildet hatte.

Neben solchen Bildungen konnte man namentlich bei der Färbung der Präparate mit Gentianaviolett Figuren beobachten, welche die Mittel an die Hand gaben, sich über die Herkunft dieser Kügelchen Gewissheit zu verschaffen.

So waren Komma- und Stäbchenformen von äusserst dünner Beschaffenheit zu sehen, die in ihrer Gesammtheit kaum die Farbe annahmen. An solchen Stäbchen wurden oft Verdickungen bemerkt, die den Eindruck machten, als ob man es stellenweise mit Knotenbildungen zu thun hätte. Diese Verdickungen, die am Körper des Stäbchens sassen, waren etwas intensiver gefärbt, als die umgebenden Theile des Stäbchens; ihr Durch-

messer war verschieden, selten von der Grösse des Stäbchendurchmessers, öfters aber grösser als derjenige des Stäbchens. In dem Maasse, wie die Kügelchen und die beschriebenen Verdickungen am Körper der Stäbchen- und Kommaformen zunahmen, nahm auch der Unterschied zu in dem Färbungsvermögen dieser Bildungen und demjenigen des Körpers des Stäbchens, aus dem sie hervorgegangen waren. Der Sitz der erwähnten Kügelchen und ihre Anzahl war verschieden, entweder eine Verdickung an einem Pole des Stäbchens, oder zwei Verdickungen, je an einem Pole eine, oder drei solcher Bildungen, an jedem Pole und in der Mitte des Stäbchens eine Verdickung. Durch diese Variation in der Disposition der Verdickungen ergaben sich originelle Formen. Sass das Kügelchen an einem Ende des Stäbchens, so entstand der Eindruck eines sporentragenden Tetanusbacillus, bloss mit dem Unterschiede, dass das am Ende des Stäbchens sitzende Kügelchen gut gefärbt erscheint, während das Stäbchen selbst nur äusserst schwach gefärbt ist. Wenn an jedem Ende des Stäbchens oder des Kommas ein Kügelchen sitzt, so erhält man ein sehr auffallend an die Hantel erinnerndes Gebilde; diese haben bekanntlich einen geraden oder einen gekrümmten mittleren Theil.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass man sich den ganzen Cyklus der Zerstörung des Choleravibrios folgendermaassen vorstellen muss. Aus dem Umstande, dass feine, durchaus blasse, kaum gefärbte Individuen sichtbar sind, folgt, dass ein Theil der Vibrionen zerstört wird, ohne dass das Stäbchen weitere Veränderungen erleidet, als dass es immer feiner wird, sich immer schwächer färbt und schwindet. In diesem Falle schmilzt der Mikrob buchstäblich zusammen. Bei anderen Stäbchen macht sich die Zerstörung an den zwei Bestandtheilen des Stäbchens, an seinem Gerüste, Leibe und an den in ihm existirenden, in seinem Leibe eingeschlossenen, mehr oder weniger central liegenden Centralkörperchen nicht gleichmässig geltend. Die letzteren, als der widerstandsfähigste Theil des Bacteriums, verspäten sich in ihrer Zerstörung im Vergleiche mit dem Gerüste, dem Leibe des Stäbchens: Wenn das Gerüst schon beinahe zerstört ist, behalten sie noch die Fähigkeit, sich zu färben. Im weiteren Verlaufe quellen sie auf, lösen sich von dem Gerüste des Stäbchens ab; bei einem gewissen Grade der Aufquellung sind sie noch im Stande, Farbstoffe gut aufzunehmen, bei weiterer Volumzunahme aber vermindert sich diese Fähigkeit, ihre Formen werden unbestimmt, immer schwieriger wird es, diese Formen von den undeutlichen Contouren des Grundes zu unterscheiden, und schliesslich werden sie ganz verwischt.

Man könnte glauben, dass der Untergang von Vibrionen ohne Kügelchenbildung hauptsächlich an solchen Individuen Platz greife, die sich nicht in der Bauchhöhle entwickeln, sondern in dieselbe einge-



führt wurden, oder überhaupt an schwachen Individuen. Was die Aufquellung der Kugeln — manchmal bis zu enormer Dimension — anbetrifft, so kann man darin die Aeusserung zweier Factoren erblicken: der allmählich erlöschenden Lebensenergie des Vibrionenkügelchens einerseits und der wachsenden baktericiden Eigenschaften der Säfte des Organismus andererseits. Beide Factoren wirken gleichzeitig, aber in den ersten Momenten kommt die Lebensenergie des Kügelchens stärker zum Ausdruck, in den folgenden die baktericiden Eigenschaften der Säfte. In den ersten Momenten nach seiner Entstehung ist das Kügelchen lebendig. aber dank der schädlichen Einwirkung des umgebenden Milieu ist es nicht befähigt, seine Lebensenergie zu äussern im Sinne eines Längenwachsthums oder einer sogleich erfolgenden Theilung. Zum Längenwachsthum fehlt ihm die Hülle, der Mikrobenkörper, der für unsere Technik zerstört wurde. Was die Theilung anbetrifft, so erfordert dieselbe, als ein ganz besonders feiner Vorgang, unbedingt günstige äussere Verhältnisse, die die volle Energie auf diesen feinen Vorgang zu concentriren ermöglichen. Solche Verhältnisse existiren aber für das Kügelchen nicht, und in Folge dessen äussert sich die neubildende Lebensenergie des jungen Kügelchens in der Volumszunahme desselben nach allen Richtungen statt nach einer einzigen, wie das der Fall wäre bei der normalen Theilung (oder sie äussert sich darin, dass die chromatische Substanz sich längs der Peripherie des Kügelchens in einer mehr weniger dünnen Schicht anlegt, an einzelnen Stellen manchmal unterbrochen; der centrale Theil des Kügelchens ist dabei blass). Die schädliche Einwirkung des umgebenden Milieus bleibt entweder gleich, oder sie wird, wie man glauben sollte, verstärkt. Das Kügelchen muss darauf in entsprechendem Maasse reagiren durch entsprechende Anpassung, seine Energie muss mächtiger und feiner zum Ausdruck gelangen. Bei der Zartheit der Natur des Choleravibrios entspricht dies aber nicht den Kräften des Vibrionenkügelchens, dasselbe bleibt ganz passiv den äusseren Einwirkungen gegenüber, und von diesem Momente an entsteht vor unseren Augen das Bild seines allmählichen ausgesprochenen Unterganges; der Säftewechsel zwischen dem Kügelchen und der umgebenden Flüssigkeit geschieht immer mehr zu Ununsten des ersteren, der Coëfficient dieses Säftewechsels verändert sich in dem Sinne, dass das Kügelchen immer mehr Flüssigkeit bekommt, seine Molecüle werden gesprengt, seine Ernährung sinkt, die chromatische Substanz wird zerlegt. Zum Schlusse bekommen wir ein aufgequollenes, unregelmässig begrenztes Stückchen Eiweiss, das kaum noch im Stande ist, Farbstoffe aufzunehmen.

Wir sehen also, dass auch vom Choleravibrio dasjenige gilt, was von uns am Bacterium coli beschrieben wurde, nur ist am letzteren wegen

seiner Grösse die Beobachtung aller möglichen Uebergangsformen viel vollkommener und bequemer.

Was das Zahlenverhältnis zwischen den untergehenden und normalen Individuen anbetrifft, so war bei unseren Versuchen die Zahl der untergegangenen in jedem Präparate sehr gross. Besonders auffallend war dieselbe beim Vergleiche von Präparaten, die nach der angegebenen Methode gefärbt wurden, mit Präparaten, die mit dem gewöhnlichen, in solchen Fällen üblichen Methylenblau Kühne gefärbt waren. Es ist schwer, sich etwas diametral Entgegengesetzteres vorzustellen als zwei solche Präparate. Beim Färben mit Methylenblau sieht man viele gänzlich normale Vibrionen von regelmässiger Form und Färbung; selten sieht man — während der ganzen Infection — vollkommen regelmässige, gut gefärbte, wahrscheinlich eben gebildete, vielleicht zum Theil noch lebensfähige Kügelchen. Präparate, die während einer Stunde mit einer Fuchsinlösung von 1:30 gefärbt werden, entdecken eine gänzlich neue, bunte Welt im Vergleich mit den mit Methylenblau gefärbten Parallelpräparaten, die nur die Blüthe des Mikrobenlebens vorführen.

Die Zerstörung von Vibrionen bei einer Cholerainfection eines Meerschweinchens findet also in grossem Umfange statt. In den ersten Stunden ist sie weniger ausgesprochen, wird aber im späteren Verlaufe stärker. Im Exsudate, das im Momente des Todes einem nicht mehr athmenden Meerschweinchen, dessen Herz noch theilweise schlägt, entnommen worden ist, kann man noch dieselben Bilder des Vibrionenunterganges in grosser Zahl nachweisen. Während des ganzen Verlaufes kann man mit den untergehenden zugleich noch vollkommen normale, gut gefärbte Individuen erblicken.

Mit Chloroform abgetödtete Culturen des Choleravibrios, die in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens eingeführt werden, verlieren schon nach 30 Minuten in hohem Maasse und nach einer Stunde gänzlich die Fähigkeit, sich zu färben, und werden bei einstündiger Einwirkung von Fuchsinlösungen 1:30 kaum gefärbt. Das Pfeiffer'sche Phänomen ist dabei nicht zu constatiren. Das ist auch begreiflich. Das Pfeiffer'sche Phänomen weist auf das ungleichzeitige Absterben der verschiedenen Bestandtheile des Vibrios bei der Einwirkung von baktericiden Säften hin. Im Falle, wo schon abgetödtete Culturen in die Bauchhöhle eingeführt werden, ist zu solchem ungleichzeitigen Absterben kein Grund mehr vorhanden. Es werden Bilder von Aufblähung dabei beobachtet, zum Theil auch Abrundung der abgetödteten Vibrionen, als Ausdruck der Durchtränkung der Vibrionencadaver mit den Säften des Organismus. Es ist begreiflich, dass diese Cadaver in ihrem kürzeren Durchmesser breiter werden, sich abrunden; der kürzere Durchmesser von mehr oder weniger



gleichartigen Körpern vergrössert sich bei der postmortalen Aufquellung zum Theil auf Kosten des längeren Durchmessers; solche Körper werden kürzer und dicker.

III.

Alles, was vom Choleravibrio ausgeführt wurde, gilt auch in bedeutendem Maasse vom Bac. pyocyaneus.

Die kleinste Dosis, die im Stande war, ein Meerschweinchen von 250 bis 350 grm zu tödten, betrug bei diesem Mikroben bis zu $^1/_{60}$ Cultur auf Agar = $^1/_4$ Oese. Auch in diesem Falle benutzten wir 12 Stunden alte Culturen. Bei einer Dosis von $^1/_{60}$ Cultur verschwand der Mikrob nach vorangegangener Vermehrung aus der Bauchhöhle in der 6. bis 7. Stunde in solchem Maasse, dass derselbe in keinem von allen 4 Präparaten in irgend welcher bedeutenden Zahl zu finden war (wir fertigten uns von jeder Probe aus der Bauchhöhle bei allen unseren Versuchen je 4 bis 5 Präparate an; dies ist unbedingt nöthig wegen der grösseren Genauigkeit, manchmal sogar zur Ermöglichung der Untersuchungen). Diese rasche Verminderung der Zahl der Mikroben, die sich im Beginne der Infection vermehrt hatten, erklärt sich aus der Natur des Bac. pyocyaneus, der als Uebergangsform zwischen den rein toxischen und rein infectiösen Mikroben gilt. Der Bac. pyocyaneus, der nicht viele Passagen durch den Organismus von Versuchsthieren durchgemacht hat, d. h. wenn er seine wahren Eigenschaften nicht eingebüsst hat, braucht nicht das Bild der rein infectiösen Mikroben darzubieten, wenn er nur in einer die tödtliche Minimaldosis nicht übersteigenden Menge in den Thierorganismus eingeführt worden ist. Wir hatten dabei die Gelegenheit, uns zu überzeugen, dass der Bac. pyocyaneus sich an Zahl im Organismus verminderte, indem er ein sehr typisches Bild des Pfeiffer'schen Phänomens darbot. In denselben Fällen hatten wir auch die Gelegenheit, in noch anschaulicherer Form alle diejenigen Stadien der Mikrobendegeneration zu beobachten, welche von uns bei der Gelegenheit der Cholerainfection oben beschrieben wurden (Färbung mit Gentianaviolett). In der ersten Stunde nach der Infection wurde zu gleicher Zeit mit dem Pfeiffer'schen Phänomen auch Mikrobenzerstörung beobachtet, ohne dass sich in denselben ihre Bestandtheile differenzirten. Zugleich mit normalen Stäbchen waren auch sehr blass gefärbte, aufgeblähte, zum Theil abgerundete Stäbchenformen zu sehen. Die Meerschweinchen starben in Fällen von rascher Verminderung der Mikrobenzahl in der 9. bis 10. Stunde. Jede halbe Stunde wurden in der zweiten Periode der Infection einige Präparate angefertigt; an diesen aber konnte man nur bei sorgfältiger Untersuchung vereinzelte normale Individuen auffinden.

Nach dem Tode der Meerschweinchen gelang es immer, aus ihrem Blute den Mikroben herauszuzüchten.

Bei etwas grösseren Dosen ($^1/_{30}$ bis $^1/_{15}$ Cultur) gelang es während der ganzen Zeit der Infection, die 9 bis 11 Stunden dauerte, den Mikroben in grosser Zahl zu finden. Dabei konnte man constatiren, dass der Untergang des Bac. pyocyaneus nach dreierlei Arten vor sich geht. Erstens kann das Stäbchen dünner werden, seine Tinctionsfähigkeit verlieren, ohne dass sich dabei Kugeln ausscheiden, obgleich man in solchen Bacillen einzelne Punkte als Mikrobenbestandtheile mehr oder weniger unterscheiden konnte, wie dies R. Pfeiffer und Kolb auch schon bei der intraperitonealen Typhusinfection der Meerschweinchen beschrieben haben. Zweitens kann dabei ein ganz typisches Pfeiffer'sches Phänomen beobachtet werden. Drittens können die Bacillen zerstört werden, indem sie sich aufblähen, aufquellen und ihre Tinctionsfähigkeit verlieren. In diesem Falle, der einen vollständigen Gegensatz zum erwähnten Dünnerwerden des Bacillus darstellt, liegt die Annahme nahe, dass die Bacillen nicht auf einmal abgetödtet und zerstört wurden, sondern dass sich beides an den Bacillen langsamer abspielte. Es ist verständlich, dass bei der raschen Abtödtung und Zerstörung der zerstörende Effect an der Masse des Mikrobenleibes stärker ausgesprochen sein wird, als in denjenigen Fällen, wo dieser Process langsamer vor sich geht, indem die Zerstörung von Diffusionsprocessen, d. h. von einer Aufquellung des Mikroben, begleitet ist. Die Zerstörungsprocesse von Mikroben wurden beobachtet während der ganzen Zeit der Infection, in den ersten sowohl als auch in den letzten Stunden. Im weiteren Verlaufe der Infection äusserte sich die Zerstörung immer stärker, indem sie auch auf die Gesammtzahl der Mikroben einwirkte, im Sinne einer Verminderung derselben.

Eine durch Erwärmen auf 60° während einer Stunde abgetödtete Cultur des Bac. pyocyaneus bestand aus Individuen, die sich ganz gut färbten. Wenn man aber solche Culturen in tödtlicher Dosis in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens einführt, so verlieren die Individuen derselben schon nach 30′ die Fähigkeit, sich mit Methylenblau zu färben; sie färben sich aber sehr schwach mit der erwähnten Fuchsinlösung, wobei sie Bilder von aufgeblähten, länglichen Individuen darbieten, ganz analog wie bei einer tödtlichen Infection mit einer lebenden Cultur.

IV.

Die Typhuscultur, die uns zur Verfügung stand, tödtete ein 250 bis 350 ^{grm} schweres Meerschweinchen in einer Dosis von $^1/_4$ Oese = $^1/_{60}$ einer 12 Stunden alten Cultur auf Agar. Die Infection dauerte in allen unseren



Versuchen beinahe 12 Stunden. Schon in der ersten Stunde nach der Infection konnte man eine Abtödtung, eine Zerstörung von Mikroben constatiren. Individuen solcher Art stellten sich dar als aufgebläht, blass gefärbt, im Vergleiche mit den dünneren, gesättigt-roth gefärbten Individuen in der Nachbarschaft. Die Zahl solcher untergehenden Individuen war im Verhältniss zu den normalen nicht gross. Aber im weiteren Verlaufe der Infection vergrösserte sich die Zahl der untergehenden, zerstörten Individuen immer mehr. Eine besonders starke Vermehrung der Zahl solcher Individuen fand 5 bis 6 Stunden vom Beginne der Infection statt. Zwischen der 6. und der 10. bis 11. Stunde der Infection übertraf die Zahl solcher Individuen die der normalen in bedeutendem Maasse. Die Präparate, welche uns zur Verfügung stehen, lassen keinen Zweifel daran, dass die bactericiden Kräfte im Verlaufe eines infectiösen Processes mit dem weiteren Verlaufe desselben immer mehr anwachsen, ihre Wirkung auf die neu gebildeten Individuen immer mehr entfalten. In der letzten Stunde des Lebens des Thieres vermehrt sich wieder die Zahl der normalen Individuen, obgleich auch in dieser Periode eine nicht unbedeutende Zahl zerfallender Individuen zu sehen ist.

In den ersten Stunden haben die untergehenden Individuen eine mehr oder weniger längliche Form, was der Annahme entsprechen würde, dass die in den ersten Momenten untergehenden Individuen die Zahl der in den Organismus eingeführten länglichen Individuen betreffen. Aber im weiteren Verlaufe beginnt die Zahl der untergehenden Individuen immer mehr auf Kosten der runden oder nahezu runden Formen zuzunehmen. Bei der Untersuchung der typhösen Infection bei Thieren (mit unserer Cultur!) gelang es uns nicht, einen solchen Reichthum von durchaus scharfen demonstrablen Formen zu constatiren, die einen Schlüssel zum Verständniss des Pfeiffer'schen Phänomens geliefert hätten, wie das der Fall war bei unseren Experimenten mit dem Bac. coli. Nichts desto weniger konnte man solche Stäbchen beobachten, an denen, wenn auch nicht besonders scharf, sich 2 bis 3 stärker gefärbte Punkte differenzirten; das Gerüst des Stäbchens war etwas schwächer gefärbt. Es ist daher anzunehmen, dass eine grosse Mehrzahl der runden oder nahezu runden Untergangsformen des Mikroben zu denjenigen Formen zugerechnet werden müssen, deren Zerstörung nach dem Typus des Pfeiffer'schen Phänomens vor sich geht. Es ist auch anzunehmen, dass ein Theil der untergehenden runden Gebilde entstanden ist auf Kosten der ganz jungen, eben durch Theilung gebildeten Formen, die reich sind an demjenigen Stoffe, der das Centralkörperchen der Bakterien bildet, und noch sehr arm sind an dem das Bakteriengerüst bildenden Stoff. Diese jungen Formen werden von der zerstörenden Einwirkung der baktericiden Stoffe ergriffen, noch bevor sie



in die Länge wachsen und behufs neuer Theilung Material ansammeln. Unter der Einwirkung von baktericiden Stoffen quellen diese beinahe runden Formen auf — wodurch alle ihre Durchmesser ausgeglichen werden — und verlieren allmählich die Fähigkeit, Farbstoffe aufzunehmen. In den untergehenden Gebilden kann man eine ungleichmässige Vertheilung der chromatischen Substanz, eine ungleichmässige Färbung an verschiedenen Theilen bemerken. Es kommen solche Formen zum Vorschein, die analog sind denjenigen, welche wir bei unseren Versuchen mit dem Bacterium coli beobachtet haben. So konnte man eine nicht unbeträchtliche Zahl von Figuren sehen, die sich in ihrer Mitte durch eine schwächer gefärbte quere Linie in zwei gleiche Hälften theilten. Man bekommt den Eindruck, als ob die chromatische Substanz, welche die ganze Masse des runden Gebildes (welches die Rolle des Centralkörperchens des Bacteriums spielt) ausmacht, behufs Bakterientheilung sich an den Polen anzuordnen beginne. An anderen Stellen sieht man runde Gebilde, die stärker an der Peripherie und schwächer im Centrum gefärbt sind: man bekommt den Eindruck, als ob die erwähnte chromatische Substanz, statt zu den Polen zu wandern, sich überall an der Peripherie angeordnet hätte. In einer dritten Reihe von Fällen, die seltener sind, ordnet sich dieselbe chromatische Substanz noch unregelmässiger an: sie liegt in Form von Klümpchen an der Peripherie, an den Enden zweier Linien, die sich schneiden und ein regelmässiges Kreuz bilden; es scheint, als ob aus solcher Anordnung der erwähnten chromatischen Substanz ein Staphylococcus mit seinen kreuzförmig angeordneten Kokken entstehen wollte. Alle diese eigenthümlichen Formen weisen auf ein und dasselbe hin, nämlich auf eine noch nicht ganz zu Grunde gegangene Energie der runden Gebilde, die aber Dank den verderblichen äusseren Bedingungen äusserst unregelmässig, eigenthümlich, verkehrt zum Vorschein kommt.

Zugleich mit diesen sieht man länglichere, blass gefärbte Formen, die entstanden sind aus der Degeneration ausgewachsener, längerer, zur Theilung sich anschickender Formen. An diesen Formen sind auch bald stärker, bald schwächer gefärbte Stellen zu sehen; bald liegen die länglichen stärker gefärbten Stellen senkrecht zum langen Mikrobendurchmesser, mit den schwächer gefärbten Stellen abwechselnd, bald sind sie über dem ganzen Leibe des Mikroben in vollständiger Unordnung zerstreut: es entstehen äusserst bunte Bilder.

Die Entstehung dieser Mannigfaltigkeit muss offenbar in derselben unregelmässig und verkehrt zum Ausdruck kommenden, noch nicht ganz zu Grunde gegangenen Energie gesucht werden. Alle beschriebenen Formen, die runden und auch die länglichen, erweisen sich endlich als durchgehends schwach gefärbt; sie quellen bis zu ungeheuren Dimensionen

auf, ihre Umrisse werden immer unregelmässiger, die Contouren werden allmählich verwischt; es kommen jene unregelmässigen, kaum begrenzten Haufen von Eiweissmassen, die reichlich das Gesichtsfeld besäen und stellenweise in compacten Massen liegen; aus diesen treten stellenweise die noch nicht ganz zerstörten runden Gebilde schwach hervor, da der Färbungsunterschied ein kaum wahrnehmbarer ist. Da hat man die Gelegenheit, an ein und demselben Präparate das wahrhaft merkwürdige Bild zu verfolgen, wie ein dünnes Stäbchen unter dem Einflusse der Säfte des Organismus sich in einen unregelmässigen Eiweissklumpen verwandelt, der an Grösse beinahe einen Lymphocyten übersteigt.

Dünne, regelmässige, normale Individuen werden beobachtet bis zum Ende des Processes, wo ihre Zahl sich vermehrt.

Eine mit Chloroform abgetödtete Typhuscultur verschwindet aus der Bauchhöhle des Meerschweinchens, nachdem sie die aufgeblähten, schwach gefärbten Formen durchgemacht hat, in 30 bis 45 Minuten.

V.

Der Diplococcus lanceolatus stellt einen Mikroben dar, der für das Kaninchen besonders verderblich ist. Unsere Cultur wurde von einem Kaninchen gewonnen, dem das Sputum eines an croupöser Pneumonie leidenden Patienten in's Blut eingespritzt worden war. Nach 3 bis 4 Passagen von Kaninchen zu Kaninchen, wobei bei jeder neuen Passage das Blut des eben gefallenen Kaninchens injicirt wurde, wurde eine Cultur von hoher Virulenz erhalten. Der zehnte Theil eines Tropfens des Blutes eines eben gefallenen Kaninchens tödtete ein gesundes Kaninchen in 29 bis 30 Stunden.

In Anbetracht unserer speciellen Aufgabe würde uns das Einspritzen des Virus in's Blut wenig nutzen. Der in's Blut eingespritzte Mikrob kann erst in den letzten 2 bis 3 Stunden der Infection in den peripherischen Gefässen nachgewiesen werden, wobei dieser erst unmittelbar vor dem Tode in bedeutender Menge erscheint. Den Mikroben in diesem Momente im Blute zu untersuchen, hiesse nur vom Schlussakte der tödtlichen Infection eine Idee zu bekommen. Andererseits ist die Zahl der 2 bis 3 Stunden vor dem Tode im peripherischen Blute sich befindlichen Mikroben so gering, dass man gezwungen wäre, aus zu wenig Thatsachen Schlüsse zu ziehen. Nur bei einer bedeutenden Mikrobenzahl würde die Vergleichungsmethode ganz bestimmte Schlüsse ergeben können. In Folge des Gesagten war es für uns wichtig, insofern es sich um den Mikroben handelt, den Process zu localisiren, wie das bis zu einem gewissen Grade in der Bauchhöhle des Meerschweinchens der Fall ist, wenn es sich um



Mikroben handelt, die sich nach Gram nicht färben. Die Localisation des Processes im Kaninchenohre bietet, was den Pneumococcus anbetrifft, unzweifelhafte Vortheile im Vergleiche zur Localisation desselben in der Bauchhöhle. Der Grund davon ist der, dass der Pneumococcus im Unterhautzellgewebe solche Lebensbedingungen findet, die in Anbetracht unseres speciellen Zweckes unschätzbare Anhaltspunkte bieten. Vermehrt sich der Pneumococcus im Unterhautzellgewebe, so bildet er eine Kapsel, die, wie das aus unseren Beobachtungen folgt, sich sehr deutlich mit Methylenblau während der ganzen Dauer der Infection färbt; in den späteren Perioden derselben lässt sich die Kapsel auch mit einer Fuchsinlösung 1:30 bei einstündiger Einwirkung färben. Dieses ist nur bei denjenigen Pneumokokken der Fall, die sich im Unterhautzellgewebe vermehren: stammt der Mikrob aus dem Blute oder aus der Bauchhöhle, so färbt sich seine Kapsel weder mit Methylenblau noch mit der erwähnten Fuchsinlösung.

Injicirt man den Mikroben unter die Haut an der inneren Seite des Ohres, so bildet sich nach einigen Stunden eine weiche teigige Geschwulst, die hauptsächlich eine seröse Flüssigkeit unter geringem Drucke ohne jede Spur von Blutbeimengung enthält. Diese Geschwulst erreichte einen um so grösseren Umfang, je länger die Infection dauerte. Bei der angegebenen Dosis (wir hielten es für überflüssig zu bestimmen, ob sie minimal ist, es genügte uns, wenn sie nur sehr klein war) dauerte die Infection etwa 24 bis 30 Stunden, während dieser Zeit bildete sich eine bedeutende Geschwulst aus. Bei minder virulenten Mikroben, wie wir das am Anfange unserer Experimente gesehen haben, nimmt diese Geschwulst einen grossen Umfang an, sie umfasst das ganze Ohr: letzteres wird um das 3- bis 4fache vergrössert.

Bei der angegebenen Dosis brachten wir sehr wenig Mikroben unter die Haut. Diese Mikroben wurden dem Blute eines eben gefallenen Kaninchens entnommen. Wie wir später sehen werden, findet die Zerstörung des Pneumococcus während der Infection in colossalem Umfange statt.

Wie wenig Mikroben wir auch einführen mögen, so giebt es doch keine Garantie, dass sich unter ihnen nicht auch untergehende Individuen vorfinden. Andererseits kann das Studium des infectiösen Processes nur dann feste, auf die natürliche Infection anwendbare Resultate ergeben, wenn der Untersuchung nur solche Individuen unterworfen werden, welche sich im inficirten Organismus selbst vermehrt haben und nicht von aussen in denselben eingeführt worden sind.

Die Geschwulstbildung am Kaninchenohre schafft unersetzbare Verhältnisse, um den erwähnten Bedingungen Genüge zu leisten.

Wenn wir den Mikroben unter die Haut des Ohres an seiner inneren Seite möglichst nahe zur Spitze einspritzen, so bleibt für die Ausbreitung der sich bildenden Geschwulst nur ein Weg offen, nämlich der nach unten.



Je mehr Stunden vom Anfange der Infection verstreichen, desto weiter nach unten rückt die Geschwulst, und indem wir vermittelst eines Röhrchens einen Theil ihres serösen Inhaltes an ihrem unteren Ende entnehmen, bekommen wir jedes Mal unbedingt neugebildete Individuen, welche in den neugeschaffenen Verhältnissen leben.

In Folge dessen gewinnen die Versuche mit dem Pneumococcus, was unseren Zweck anbetrifft, an besonderer Beweiskraft.

Die Ausbildung der Geschwulst erforderte eine gewisse Zahl von Stunden.

Da wir nur $^1/_{10}$ ccm Flüssigkeit, in welcher der Pneumococcus sich befand, injicirten, so wäre es undenkbar, denselben schon in den ersten Stunden der Infection zu finden, ohne dabei zu riskiren, den Versuch zu verderben oder ungenaue Resultate zu bekommen. Deshalb beziehen sich unsere frühesten Beobachtungen auf die fünfte Stunde nach der Einführung des Mikroben, wo die Geschwulst schon vorhanden war (für die Beobachtung blieb noch die Frist von 25 Stunden übrig).

Aus unseren Beobachtungen geht hervor, dass das Absterben, die Degeneration des Mikroben binnen den letzten 25 Stunden der im Ganzen 29 bis 30 Stunden dauernden Infection stattfindet. Die Zahl der degenerirenden Individuen wächst mit dem weiteren Verlaufe der Infection. Ist die Zahl der zerstörten Individuen am Anfange gering, so übersteigt sie am Ende die Zahl der normalen bedeutend.

Wir haben schon hervorgehoben, dass bei der Localisation des Processes im Unterhautzellgewebe die Kapsel des Mikroben sich ganz deutlich mit Methylenblau färbt. Bei der näheren Betrachtung eines Präparates, das einer beliebigen Periode der Infection entspricht, kann man sich überzeugen, dass unter den normalen, scharf gefärbten, gekapselten Individuen noch Scheibchen oder ausgezogene hufeisenförmige Gebilde oder auch Körperchen von ganz unregelmässiger Form sichtbar sind, an denen nur noch die stärker gefärbte Peripherie als feine Linie zu erkennen ist, der Körper aber ist ebenso wie der Grund des Präparates blass hellblau gefärbt. Beim Vergleiche dieser eigenthümlichen Gebilde mit den Kapseln der normalen Mikroben stellt sich heraus, dass diese eigenthümlichen Gebilde nichts anderes darstellen als leere, keine Mikroben enthaltende Kapseln. Die Identität der Form ist eine vollständige. Bekanntlich nimmt die Pneumokokkenkapsel verschiedene Formen an, je nach der Form des Mikroben. Die runde Form und die längliche mit abgerundeten Enden sind in diesem Falle nicht so auffallend, wie die spitzwinkeligen, für den Pneumococcus lanceolatus typischen Formen. Die ganz gleichen Formen sieht man auch unter den leeren Kapseln. Die Bildung einer Einschnürung an den länglich-runden oder spitzwinkeligen Kapselformen



im Momente der Theilung erklärt jene bizarren Formen, die wir unter den leeren Kapseln antreffen. So sieht man Scheibchen, an welchen an einer Seite ein hufeisenförmiges Stückchen fehlt, stellenweise sieht man regelmässige Dreiecke mit einem fehlenden Schenkel: es entsteht eine Form, die aussieht wie ein durch zwei spitzwinkelig sich schneidende Linien gebildeter offener geometrischer Winkel; zu gleicher Zeit sieht man noch unregelmässigere Formen, mehr oder weniger zusammengesetzte doppelte Formen u. s. w.

Ausser der vollkommenen Identität der leeren und der Mikroben enthaltenden Kapseln sprechen noch für die Natur der eigenthümlichen leeren Formen mit vollständiger Beweiskraft die Uebergangsformen, welche man zuweilen zu gleicher Zeit ebenda sieht. An diesen Uebergangsformen kann man das Bild des Absterbens, der Zerstörung der Mikroben selbst constatiren. Dieses Verschwinden des Pneumococcus ist, wie die Färbung mit Methylenblau beweist, echtes Verschwinden: der Mikrob wird immer kleiner, dünner, die eine Hälfte färbt sich noch, die andere ist kaum sichtbar; endlich könnte man die Kapsel schon für leer halten, wenn nicht bei aufmerksamerer Beachtung Andeutungen einer feinen Linie im Innern der Kapsel zum Vorschein kämen. Beim Färben mit einer Fuchsinlösung 1:30 während einer Stunde kann man dieselben Veränderungen constatiren, sowohl am Mikroben als auch an seiner Kapsel. Was den Mikroben anbetrifft, so kann man constatiren, dass er allmählich die Fähigkeit verliert, sich hell und später überhaupt zu färben, und dass er bei der Zerstörung dünner wird. Eine Mikrobendegeneration, die von dessen Aufquellung und Abrundung begleitet wird, findet zwar auch am Pneumococcus lanceolatus statt, aber in sehr geringem Umfange. Was die Kapselfärbung mit der erwähnten Fuchsinlösung anbetrifft, so gelingt diese, im Gegensatz zur Färbung der leeren Kapseln mit Methylenblau, nicht an allen Präparaten. Es ist schwer zu erklären, wovon es abhängig ist, dass an manchen Präparaten diese Färbung gelingt, an anderen nicht. Es ist schwerlich möglich, dass die Färbungsdauer allein eine Rolle spiele. (Es mag hier hervorgehoben werden, dass — behufs Vermeidung von Unbequemlichkeiten jeder Art — wir unsere Präparate in allen unseren Versuchen weder an der Flamme noch irgend wie anders fixirten: die Präparate wurden an der Luft getrocknet, dann mit der Farbstofflösung bedeckt, die Farbe vorsichtig abgespült; die Präparate wurden vermittelst Papier oder an der Luft in vertikaler Lage getrocknet und dann untersucht.) Jedenfalls gelang die Färbung der Kapseln mit Fuchsin ziemlich häufig.

Die in diesem Falle erhaltenen Resultate stimmten vollkommen mit denjenigen überein, die das Methylenblau immer und unbedingt ergab.



nur mit dem Unterschiede, dass bei der Färbung mit Fuchsin der Grund ungefärbt blieb, das ganze Bild besonders demonstrabel war. Auf Grund von Präparaten, die in den letzten Stunden der Infection erhalten wurden, wo — Dank unbekannter Ursachen — nur die leeren, nicht aber die Mikroben enthaltenden Kapseln deutlich gefärbt wurden, konnte man jenen ungeheueren, colossalen Mikrobenuntergang beurtheilen, der da stattfand.

Beim Untersuchen des peritonealen Exsudates und des Blutes sogleich nach dem Tode des Kaninchens, konnte man dieselbe Mikrobenzerstörung constatiren, aber als Ausdruck dieser Degeneration galt nur das, was man an den Mikrobenkörpern selbst mit Hülfe der Fuchsinfärbung beobachten konnte. Weder Methylenblau noch Fuchsin färbten die Kapseln derjenigen Mikroben, die sich im Blute und in der peritonealen Flüssigkeit befanden.

Es ist interessant, sich die sehr lehrreiche Thatsache zu merken, dass am Pneumococcus nur Dank der Anwesenheit von leeren Kapseln, die sich nur unter der Haut färbten, solche Bilder entstanden, die mit jener ungeheuren Mikrobendegeneration übereinstimmte, wie wir sie oben am Bacillus typhi, Vibrio cholerae beschrieben haben. Die Zahl der Uebergangsformen, d. h. der Kapseln mit Mikrobenresten, war doch sehr gering im Vergleiche zur Zahl der leeren Kapseln.

VI.

Der Streptococcus pyogenes, der uns zur Verfügung stand, wurde uns von Hrn. **Petruschky** liebenswürdig überlassen.

In Anbetracht der Resultate und der Bequemlichkeiten der Beobachtung, die uns die Einspritzung des Pneumococcus lanceolatus lieferte, hatten wir die Absicht, auch beim Studium der Streptokokkeninfection in derselben Weise zu verfahren. Unser Streptococcus gehörte nämlich zur Zahl derjenigen, die, von einem Menschen isolirt, die Fähigkeit haben, erysipelatöse Processe am Kaninchenohr leicht hervorzurufen. Rieb man in eine Wunde am Kaninchenohr eine Oese einer frischen Bouilloncultur dieses Streptococcus ein oder brachte man ihn in sehr geringer Menge in eine Hauttasche hinein, so gelang es thatsächlich, einen an Erysipel erinnernden Process regelmässig hervorzurufen. Das Ohr schwoll an, wurde — bei durchfallendem Lichte betrachtet — roth, gespannt. In 3 bis 4 Tagen nach der Inoculation starb das Kaninchen regelmässig bei Anwesenheit des Mikroben im Blute, manchmal in sehr unbedeutender Menge. Wir konnten aber den localen Process am Ohre für unsere Zwecke



nicht benutzen. Dieser Process unterschied sich sehr ausgesprochen von dem durch den Pneumococcus hervorgerufenen Processe. Die Streptokokkeninfection brachte in unseren Fällen die Bildung einer bedeutenden Geschwulst, die Durchtränkung der Gewebe mit seröser Flüssigkeit nicht hervor, wie das bei der Pneumokokkeninfection der Fall war.

Die Hyperämie tritt bei der Streptokokkeninfection viel schärfer hervor als bei der Pneumokokkeninfection, wo die seröse Durchtränkung der Gewebe im Vordergrunde steht. Wir suchten den Mikroben überall: an Stellen, die von der Inoculationsstelle entfernt waren, an der Grenze der Geschwulst und in der Nähe der Injectionsstelle — das Resultat war überall das nämliche: an der Mehrzahl der Präparate sahen wir den Mikroben gar nicht, an einigen sahen wir ihn in sehr geringer Zahl. Jene einzelnen von einer Kapsel umgebenen Diplokokken, die wir bisweilen sahen, waren zu gering an Zahl in Anbetracht unserer Zwecke.

Wir waren gezwungen, uns an die Einspritzung in die Peritonealhöhle zu wenden. Bei einer Dosis von 0·01 einer Agarcultur dauerte die Infection 56 Stunden. Bei einer 2- bis 3 fachen Dosis gelang es, ihre Dauer bis auf 26 bis 30 Stunden zu reduciren. Dabei gelang es, uns zu überzeugen, dass der von uns ausgesprochene Satz, welcher sich auf die oben beschriebenen Infectionen bezieht, seine volle Geltung auch in Bezug auf den Streptococcus hat, nur mit dem Unterschied, dass am Ende der Streptokokkeninfection (mit unserer Cultur = Streptococcus „Op“ Petruschky) bei einer Dosis von 0·01 ccm eine starke Verminderung der Individuenzahl an der Stelle der primären Einspritzung sich bemerkbar macht. Bei grösseren Dosen findet sich der Mikrob entweder in grosser Menge in der Bauchhöhle oder er vermindert sich an Zahl. Offenbar spielt dabei die Individualität des Thieres eine Rolle.

Bilder der Mikrobendegeneration kann man schon 4 bis 5 Stunden nach der Einführung des Mikroben, wo er sich zu vermehren beginnt, constatiren. (In einem Falle, wo der Mikrob sich nämlich in der Bauchhöhle bis zum Tode in grosser Zahl vorfand, begann der Mikrob erst nach 8 Stunden Aufenthaltes in derselben sich merklich zu vermehren — die Infection dauerte in diesem Falle 26 Stunden). Sie finden dann während der ganzen Infectionsdauer statt. Diese Bilder in ihrer ausgesprochensten Form konnte man bei einer Färbung mit Fuchsin nach der angegebenen Methode constatiren. Sowohl wenn Diplokokkenformen, oder kurze Ketten sich vorfanden, konnte man eine ungleiche Grösse der einzelnen Körner constatiren. Unter den breiteren waren auch sehr schmale zu sehen, welche eher an eine kurze Linie erinnerten, als an das breite Glied eines Streptococcus. In Bezug auf die Färbung waren unter den gesättigt gefärbten auch blass oder kaum gefärbte zu bemerken. Die

eben beschriebenen schmalen Glieder zeigten sich manchmal entsprechend einer mittleren, durch die Kette quer verlaufenden Linie stärker gefärbt, an den Seiten dieser Linie waren die schwach gefärbten Theile zu sehen. Zuweilen fanden sich Diplokokken und Kettchen, die durchgehends aus schwach gefärbten Individuen bestanden. In späteren Stadien trafen sich zu gleicher Zeit mit den beschriebenen auch ganz eigenartige Formen. Statt eines Streptococcus, der nur aus Gliedern mit hellen Zwischenräumen besteht, waren schmale, längliche, sogar kurze Bänder und Streifchen zu sehen, welche durchgehends schwach roth gefärbt waren. An diesen Gliedern sassen stellenweise stärker gefärbte, äusserst unregelmässig zerstreute Gebilde in Form von Punkten verschiedener Grösse oder von schmalen Linien. Offenbar bekam diejenige Substanz die Fähigkeit, Farbstoffe aufzunehmen, welche bei normalen Lebensverhältnissen des Streptococcus seine einzelnen Glieder verbindet, welche aber gewöhnlich unsichtbar ist, da sie keine Farbstoffe aufnimmt. Im Blute kann man auch nach dem Tode des Thieres Degenerationsformen des Mikroben nachweisen in Gestalt von mehr blass gefärbten Individuen.

Was die Färbung von Präparaten mit Methylenblau anbetrifft, so bietet diese weniger in Bezug auf den Mikrobenleib als in Bezug auf seine Kapsel ein Interesse dar. Hier wird in bedeutendem Maasse das beobachtet, was früher in Bezug auf den Pneumococcus hervorgehoben wurde. Es ist bekannt, dass der Streptococcus eine Kapsel bekommt, wenn er im Thierorganismus parasitirt. Dies betrifft wahrscheinlich die Individuen, welche sich schon im Organismus gebildet haben: gleich nach der Einführung des Mikroben ist keine Kapsel um seine Individuen zu sehen. Bei der gewöhnlichen Färbung mit Methylenblau Kühne, die 1 bis 2 Minuten dauert, werden diese Kapseln sichtbar, nicht weil sie gefärbt werden, sondern umgekehrt, weil sie hell, ungefärbt bleiben: auf ihrem hellen Grunde liegt der Streptococcus, während der Grund des Präparates überall rings um sie herum mehr oder weniger stark hellblau gefärbt ist. Nur in der letzten Periode der Infection wird die Kapsel manchmal (entfernt nicht immer) hellblau gefärbt, intensiver als der umgebende Grund des Präparates.[1] Dieses Ungefärbtbleiben der Kapsel präsentirt sich als eine grosse Unbequemlichkeit in Bezug auf das Studium ihrer Beziehung zum Mikroben, zu seiner Degeneration, zu seinem Verschwinden. An nicht besonders stark gefärbten Präparaten kann man bemerken, dass die Kapsel eigentlich nicht farblos ist, sondern kaum merklich lilafarbig ist. Bei einer Färbung von 1 Minute Dauer (mit gutem Methylenblau Kühne) wird die schwache lilafarbige Nüance der Kapsel ganz verwischt; sie geht

[1] Von Bordet bemerkt: *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897.



in eine weisse über wegen des ausgesprochen blauen Grundtones des Präparates. Man kann auch die Verhältnisse völlig umgekehrt gestalten.

Geschieht das Färben mit Methylenblau ausserordentlich flüchtig, so rasch, wie nur möglich, indem man den Farbstoff nur während einiger Hundertstel Secunde einwirken lässt, so erhält man ein Präparat, an welchem nur die Kapseln zart lila-blass, rosafarbig gefärbt sind, der in der Kapsel liegende Streptococcus ist hellblau, während der Grund des Präparates blass oder kaum schwach hellblau gefärbt wird. Unter solchen Bedingungen ist es viel bequemer, die Kapsel zu studiren. Die aus einer homogenen, nicht körnigen Masse bestehenden Kapsel hat einen sehr deutlichen Saum in Form einer feinen Linie an der Peripherie. An einigen Kapseln besteht dieser Saum aus einer ununterbrochenen Linie, an anderen, wahrscheinlich alternden, sieht man dagegen eine Reihe Punkte, die die Kapsel ganz umgrenzen: die Punkte, welche den Saum bilden, sind ungleich gross, dazwischen sind schmale, feine Commissuren sichtbar; der Saum bekommt deshalb eine Art Rosenkranzform. Was den Streptococcus anbetrifft, so färbt sich dieser ganz gut bei einer Färbungsdauer von einigen Hundertstel Secunde und liegt meistens in der Mitte, in manchen Fällen liegt er excentrisch, indem er sich parallel zu dieser Peripherie legt. Es scheint, als ob der Inhalt der Kapsel aus so beweglichen Theilchen bestehe, dass der Streptococcus in der Kapsel wandern kann, er schwimmt so zu sagen in der Kapsel. Manchmal, wenn der Streptococcus in der Nähe des peripherischen rosenkranzförmigen Saumes liegt, ist es schwer, den Saum vom Streptococcus zu unterscheiden, so sehr sieht der Rosenkranz des Saumes dem Streptococcus ähnlich.

Verfolgt man die Gestalt der Kapsel systematisch während der ganzen Dauer der Infection, so kann kein Zweifel daran bestehen, dass im weiteren Verlaufe der Infection die leeren Kapseln immer mehr zum Vorschein kommen. So kann man rundliche kleine Felder beobachten, welche aus einer homogenen, nicht körnigen Masse bestehen und von einem rosenkranzförmigen Saume umgeben sind. Manchmal liegt ein solches Feld und eine Kapsel mit einem Streptococcus in einem Gesichtsfelde: dann wird es unmöglich, die Gleichwerthigkeit beider zu verkennen. Neben den oben beschriebenen rundlichen Feldern, die keinen Streptococcus enthalten, ist noch eine Masse äusserst unregelmässiger Felder von verschiedener Grösse zu sehen, welche durch dieselben kranzförmigen Säume begrenzt sind. An anderen Stellen bestehen diese Felder nicht aus einer homogenen, sondern aus einer feinkörnigen Masse; ferner sieht man anstatt der Felder verworrene, in eine Masse zusammengedrückte rosenkranzartige Fäden. Man sieht Uebergänge von Feldern mit homogener Masse zu Feldern von unregelmässiger Form, zu körnigen Feldern, zu Flecht-



werken, welche nur aus rosenkranzartigen Fäden bestehen und äusserst unregelmässige Figuren begrenzen.

Alle diese wunderlichen Formen kann man in Zusammenhang bringen, wenn man annimmt, dass die Kapseln, wenn sie ihren Mikroben verlieren, körnig degeneriren; dieser körnige Inhalt verschwindet zum Theil, ein anderer Theil verlässt die Kapsel, d. h. ihr Saum fällt zusammen, bildet Falten, bekommt äusserst unregelmässige Formen. Am Ende der Infection sind die Präparate ganz überfüllt von körnigen Massen, von schwach lila-rosafarbiger oder auch mehr hellblauer Farbe (je nach der Dauer der Einwirkung des Methylenblaus), welche die unregelmässigsten Formen darstellen.

Uebergänge von Kapseln, welche den Mikroben enthalten, zu leeren gelingt es nicht zu sehen: der Mikrob ist so klein, dass eine sehr rasche Färbung mit Methylenblau dazu keine Anhaltspunkte liefert.

VII.

Die Milzbrandbacillus-Cultur, welche uns zur Verfügung stand, zeichnete sich durch keine besondere Virulenz aus. Zwei Drittel einer 24stündigen Agarcultur tödtete ein Meerschweinchen von 300 bis 400 ^{grm} in 72 bis 96 Stunden. Man brauchte eine ganze 12stündige Agarcultur, um ein Meerschweinchen von mittlerer Grösse in einigen Tagen zu tödten. Kleine Meerschweinchen starben bei einer so grossen Dosis auch schneller: in 30 bis 18 Stunden. Obgleich es bei der langdauernden als auch bei der kurzdauernden Infection eine anwachsende Mikrobendegeneration zu constatiren gelang, war es doch bei den angegebenen Bedingungen schwer zu entscheiden, ob die im Organismus ausgewachsenen Individuen der Zerstörung anheimfallen, oder ob es sich um die in den Organismus eingeführten handelt. Bei der sehr grossen $^2/_3$ oder eine ganze Agarcultur betragenden Dosis wurden dem Organismus Millionen von Individuen einverleibt. Es ist schwer, gegen die Behauptung aufzutreten, dass unter dieser Zahl viele, wenn auch nicht todte, so doch geschwächte Individuen sich befinden. Dann wäre der ungeheure Reichthum an degenerirenden Individuen, welche sogar der zerstörenden Einwirkung der normalen Säfte des Organismus nicht zu widerstehen vermögen, erklärlich.

Der Milzbrandbacillus gewährt, Dank seiner Fähigkeit, Sporen zu bilden, die Möglichkeit, die Einführung von entwickelten Individuen in den Organismus ganz zu vermeiden. In Bezug auf unseren speciellen Zweck ist diese Eigenschaft des Milzbrandbacillus unschätzbar. Die Individuen, welche sich im Organismus aus den in denselben eingeführten Sporen entwickeln, müssen sich darin offenbar in Gegenwart von normalen bak-



tericiden Säften unter deren Einwirkung entwickeln; die ausgekeimten Individuen mussten sich auf solche Weise an die normalen baktericiden Säfte anpassen. Und wenn dessen ungeachtet im weiteren Verlaufe der Infection Bilder von Mikrobendegeneration zum Vorschein kommen, so wird dies mit augenscheinlicher Klarheit zu Gunsten der Annahme sprechen, dass im Organismus während der Infection baktericide Kräfte sich ausbilden, neu anwachsen.

Es ist nicht schwer, ein nicht zu grosses Meerschweinchen durch 3 bis 4 ihm unter die Haut injicirte Sporenfäden zu tödten. Aber die auf solche Weise hervorgerufene Infection würde unserem Zwecke nicht entsprechen. Ein chronischer, bacillenarmer subcutaner Process bietet wenig Bequemlichkeit in dem Falle, wo man den Process nach der Vergleichungsmethode untersuchen will. Andererseits gelang es uns, trotz vielfacher Versuche, keine Sporenkeimung in der Bauchhöhle hervorzubringen nach Einführung von Sporenfäden in dieselbe. In Anbetracht der grösseren Baktericidität der Bauchhöhlenflüssigkeit waren viel mehr Sporenfäden erforderlich. Nur wenn wir ca. 25 feine Fäden, jeder Faden bis $1^1/_2$ cm Länge, einführten, gelang es uns bei kleinen, 160 bis 200 grm schweren Meerschweinchen eine Keimung von Sporen, ein Auftreten einer reichlichen Zahl von Bacillen in der Bauchhöhle hervorzurufen. Die Fäden wurden durch einen Stich mittels einer Pincette mit feinen, scharfen Branchen hineingebracht, nachdem die angeschnittene Haut kräftig zur Seite geschoben wurde. Der hervorgerufene Process dauerte 48 bis 56 Stunden. Die Keimung der Sporen, die Vermehrung der Individuenzahl ging ziemlich langsam vor sich. Nach Ablauf von 5 Stunden nach der Einführung der Fäden war die Zahl der ausgewachsenen Stäbchen nicht gross. Im weiteren Verlaufe wuchs die Individuenzahl immer schneller. Zur Färbung der Präparate benutzten wir hauptsächlich eine Fuchsinlösung 1:30 und liessen sie eine Stunde einwirken. Diese Färbungsmethode giebt die besten Resultate, ausserordentlich saubere Präparate. Das Methylenblau differenzirt wenig das Präparat, obgleich man dabei fast dasselbe sieht: die mit Methylenblau gefärbten Präparate sind leicht zu deuten, wenn man ein mit Fuchsin gefärbtes Parallelpräparat überblickt.

Es muss hervorgehoben werden, dass bei einem Processe, welcher durch Einführung von Milzbrandbacillen hervorgerufen wird, ebenso wie bei vielen anderen tödtlichen Infectionen in der Peritonealhöhle eine Hyperleukocytose stattfindet. In späteren Perioden findet zum Theil auch eine Phagocytose statt, welche nur von den beweglichen endothelialen Zellen allein übernommen wird: die Leukocyten sind nicht befähigt, die Stäbchen der Milzbrandbacillen aufzunehmen. Auf den Verlauf der Infection übt weder die eine noch die andere irgend welchen Einfluss aus.



Wir kommen noch später auf diese Frage zurück. Eine ausgesprochene Vermehrung der Zahl der Milzbrandbacillen in der Bauchhöhle des Meerschweinchens findet bis zur 9. Stunde der Infection statt. Das ist die erste Periode der Infection, die einer reichlichen Keimung des Mikroben entspricht. In der 9. Stunde ist die Menge der Individuen sehr gross; sie bilden ein dichtes Netzwerk. Das sind lange, gebogene, dicke Stäbchen, von denen jedes aus 10 bis 20 Gliedern besteht; die Verbindung zwischen den einzelnen Gliedern ist in Form von Verdickungen, von Höckern zu beiden Seiten des Stäbchens klar angedeutet: die Enden der Glieder sind aufgebläht, wie die terminalen Condylen an Skeletknochen. Mit der erwähnten Fuchsinlösung werden alle Stäbchen gleichmässig und zwar sehr intensiv schwarz-violett gefärbt. Als Ausnahme kommen auch in dieser Periode Stäbchen vor, an denen ein Glied, gewöhnlich das Endglied, sich blass färbt. Das ist aber die Ausnahme; solche Stäbchen muss man suchen.

Nach der 9. Stunde beginnt eine zweite Periode, die Periode der immer wachsenden, ausserordentlich stark ausgesprochenen Bacillenzerstörung. An den Präparaten sieht man Stäbchen, deren Endglieder — eins oder zwei — nicht schwarz-violett, sondern blassroth gefärbt sind. Zuweilen kommen in ihrer ganzen Länge schwach gefärbte Stäbchen vor. Dabei werden die früher nicht unterscheidbaren Verhältnisse der Enden der Gliedchen deutlich sichtbar: zwischen zwei benachbarten Gliedchen sieht man eine helle ungefärbte Spalte; die Endtheile der Gliedchen, die derselben unmittelbar anliegen, sind etwas intensiver gefärbt, als der mittlere Theil, die Diaphyse des Gliedchens. Je später, desto grösser wird die Zahl der blass gefärbten Gliedchen, ganzer Stäbchen; desto heller, blasser wird auch ihre Färbung. Der Färbungscontrast zwischen den noch normal gebliebenen Individuen und den abgetödteten, halb zerstörten ist ausserordentlich scharf. Es kommen endlich nur die Skelete der früheren Gliedchen zum Vorschein, feine, scheinbar netzartige, kaum gefärbte Gebilde, welche die frühere Form des Stäbchens, seine geraden Winkel und Linien noch immer behalten. Zum Theil werden die kaum gefärbten Individuen aufgebläht; sie werden breiter, ohne ihre Form zu verlieren.

In der 11. Stunde der Infection ist die weit grösste Mehrheit der Individuen abgetödtet, halbzerstört, ausgelaugt. Die Zahl der normalen Individuen ist sehr gering. Im weiteren Verlaufe sinkt die Zahl der Individuen immer mehr, und in der 14. Stunde, 5 Stunden vom Beginne der zweiten Periode, wird die Zahl der Individuen an Präparaten sehr gering: fast alles ist zerstört, vernichtet; man sieht kleine Trümmer von Gliedchen, die jeder Form baar sind und für die Färbung schnell verschwinden.



Würden die Mikroben nur durch ihre Lebensthätigkeit dem Meerschweinchenorganismus schädlich werden, so würde man sagen können, nachdem man den ganzen 13- bis 14stündigen Process beobachtet haben würde, dass der Organismus des Meerschweinchens, nachdem er den Bacillen die Möglichkeit gewährt hat, sich zu vermehren, dieselben auch auffallend schnell zu tödten und ganz zu genesen vermochte. Der Process des ausgesprochenen Anwachsens von kräftigen Bacillen dauerte 9 Stunden, und in 5 Stunden wurden sie fast alle abgetödtet. In der 14. Stunde der Infection ist das Meerschweinchen munter, seine Temperatur beträgt 37°. In Wirklichkeit aber war der Process noch nicht zu Ende. Die auffallend rasche Vernichtung der Bacillen befreite den Organismus von ihnen nicht ganz. Während der nächsten 42 Stunden waren in der Bauchhöhle sehr seltene, ganz normale Bacillen zu sehen und neben diesen auch Degenerationsformen. Dasselbe Bild fand auch nach dem Tode des Meerschweinchens in dessen Bauchhöhle und Blute statt.

Bei der Methylenblaufärbung der Präparate konnte man auch leere Kapseln (von denen der Milzbrandbacillus im Thierorganismus immer umgeben ist) als mehr oder weniger helle Hohlräume von unregelmässiger Form sehen, welche von einem stärker gefärbten schmalen Saume umgeben waren.

VIII.

Als allgemeine Schlussfolgerung aus all' dem, was oben beschrieben wurde, ergiebt sich, dass eine tödtliche Infection in Bezug auf den inficirenden Mikroben keine einfache Erscheinung darstellt, sondern eine complicirte, die aus zwei ihrem Sinne nach entgegengesetzten Processen zusammengesetzt ist: aus der Vermehrung des Mikroben einerseits und seiner Zerstörung andererseits. Diese Thesis wurde von uns in unserer früheren Arbeit in Bezug auf den Bacillus coli demonstrirt. Auf Grund der vorliegenden Arbeit gilt sie für eine ganze Reihe von Mikroben, die für den Menschen pathogen sind, hauptsächlich für die sogenannten septicämischen Mikroben. Diese Thesis erlangt deshalb die Bedeutung eines allgemeinen Satzes: „des Gesetzes der Infection". Die Mikrobenzerstörung findet während der Infection in colossalem Umfange statt. Die grösste Mehrheit unserer Präparate berechtigt vollkommen zu der Annahme, dass der Mikrob während der Infection eine ausserordentlich energische Thätigkeit im Sinne einer unaufhörlichen Vermehrung entfalten muss. Man darf nicht glauben, dass die Summe der Individuen, welche sich im Thierorganismus am Ende oder in einem beliebigen Momente der Infection (besonders in der zweiten Periode derselben) befinden, just der Individuenzahl entspricht, welche auf dem Wege der Vermehrung



aus den eingeführten Mikroben überhaupt entstanden sind. Im Verlaufe einer tödtlichen Infection gilt eben der umgekehrte Satz: die Summe der Mikroben am Ende der Infection oder an einem beliebigen Zeitpunkte (besonders in der zweiten Periode) derselben entspricht nur dem allerkleinsten Theile der Summe aller derjenigen Individuen, welche im Organismus auf dem Wege der Vermehrung aus den eingeführten Individuen entstanden sind. Eine colossale Menge Mikroben gehen während der Infection zu Grunde, anstatt zur Bildung von immer neuen Individuen verwendet zu werden.

Was die Frage anbetrifft, wie stark der Mikrobenuntergang in verschiedenen Perioden der Infection ausgesprochen ist, so eigneten sich zur Lösung dieser Frage nicht alle Mikrobenculturen, die uns zur Verfügung standen. Dies steht im Zusammenhange mit der Virulenz des betreffenden Mikroben, mit anderen Worten: mit seiner tödtlichen Dosis. Je grösser die tödtliche Dosis des Mikroben ist, desto grösser muss die Zahl der auf einmal in den Organismus eingeführten Individuen sein; je mehr Individuen, desto grösser sind die Chancen, dass unter ihnen manche mehr, andere weniger lebensfähig, kräftig sein werden. Bei solchen Bedingungen können die normalen baktericiden Eigenschaften der Säfte des Organismus sogleich, schon in den ersten Momenten, ihre Wirkung entfalten. Es ist selbstverständlich, dass solche Bedingungen einen zu künstlichen Charakter haben, damit man ihnen eine zu grosse Bedeutung in Bezug auf die natürliche Infection hätte beimessen können. Jedenfalls gestattet das Studium der Infectionen mit Typhusbacillen, Pneumokokken und besonders Milzbrandbacillen die ganz bestimmten Schlüsse zu ziehen, dass man in dieser Beziehung zwei Perioden unterscheiden kann: in der zweiten Periode der Infection die Zahl der untergehenden Mikroben im Verhältnisse zur Zahl der gesunden viel grösser ist, als in der ersten Periode der Infection. Beim Studium der Milzbrandinfection ergab sich dieser Schluss besonders deutlich aus dem Umstande, dass im ersten Stadium der Infection fast gar keine untergehenden Individuen zu sehen waren, in deren zweiten Hälfte aber die Mehrzahl der Individuen rasch verschwand. Was die genauere zeitliche Eintheilung beider Infectionsstadien anbetrifft, des Stadiums, wo der Mikrob sich vornehmlich vermehrt, und des Stadiums, wo der Mikrob in besonders grosser Zahl unterzugehen beginnt, so ist es schwer, dieselbe mehr oder weniger genau festzustellen. Zu den ausgesprochensten Resultaten gelangten wir bei den Infectionen mit Typhus- und Milzbrandbacillen. Bei der typhösen Infection traten besonders ausgesprochene Bilder von Mikrobendegeneration zum ersten Mal in der 6. oder 7. Stunde der Infection hervor. Bei der Milzbrandinfection fiel dies mit der 9. Stunde zusammen. Eine scharfe Grenze giebt



es jedenfalls in dieser Hinsicht nicht, und am richtigsten wäre es, sich folgendermaassen auszudrücken: die Zahl der untergehenden Individuen wächst mit dem weiteren Verlaufe der Infection.

Es wäre natürlich anzunehmen, dass am Ende der Infection, wo alle Functionen des Thierorganismus sinken, die Zahl der untergehenden Individuen sich vermindern müsse. Die von uns beobachteten Thatsachen berechtigen uns absolut nicht, einen ganz bestimmten Schluss in diesem Sinne zu ziehen. Man darf dabei nicht ausser Acht lassen, dass ein Schluss in dem einen oder in dem anderen Sinne in einer mehr oder weniger bestimmten Form kaum möglich ist. Da die baktericiden Kräfte des Organismus am Ende der Infection schwächer, langsamer ihre Wirkung äussern, so werden am Ende der Infection immer mehr halbzerstörte Mikrobencadaver angehäuft, deren Degeneration in den vorangegangenen Stunden erfolgte. Wir hatten die Gelegenheit, mit vollkommener Bestimmtheit eine ausgesprochene Verminderung der allgemeinen Mikrobenmenge, d. h. sowohl der normalen als auch der degenerirten, im Organismus zu constatiren, nachdem sie sich früher, in der ersten Periode der Infection stark vermehrt hatten. Dies war der Fall bei dem Streptococcus, dem Bacillus pyocyaneus (bei sehr kleiner Dosis) und dem Milzbrandbacillus.

Die Verminderung der Mikrobenzahl ging so weit, dass man suchen musste, um den Mikroben im Präparate zu sehen. Die Möglichkeit, eine Verminderung der Mikrobenzahl zu constatiren, steht im directen Zusammenhange mit ihrer Virulenz: Je virulenter der Mikrob ist, desto geringer sind die Chancen, dass die Zahl der Mikroben am Ende der Infection abnehme. Die Annahme, dass bei einer ungewöhnlich hohen Virulenz der Mikrob bis zum Tode des Thieres sich in grosser Zahl finden werde, dass er nicht aufhören werde, sich zu vermehren, trotz der ringsum zu Grunde gehenden Individuen, könnte als Regel aufgestellt werden. Das wird verständlich, wenn man annimmt, dass ungewöhnlich virulente Mikroben eine ausserordentlich stark entwickelte Anpassungsfähigkeit an baktericiden Stoffen besitzen.

Was die Frage betrifft, wo der Mikrob bei der tödtlichen Infection zu Grunde geht, wo er zerstört wird, ob in den Säften des Organismus oder in dessen Zellen, so geht aus unseren Untersuchungen hervor, dass bei der tödtlichen Infection der Mikrob ausschliesslich ausserhalb der Zellen, in den Säften des Organismus seinen Untergang findet. Zwar findet bei der tödtlichen Infection in der Bauchhöhle bis zu einem gewissen Grade eine Hyperleukocytose statt. Als Regel kann hier die Annahme gelten, dass die Hyperleukocytose um so stärker ausgesprochen ist bei der tödtlichen Infection, je virulenter der Mikrob ist, d. h. je weniger Individuen in den Organismus eingeführt worden sind. Am stärksten ausgesprochen sahen



wir sie bei der tödtlichen Infection, welche durch die Sporenfäden des Milzbrandbacillus hervorgerufen wurde, wo der Mikrob sich sehr langsam vermehrte (ebenso wie früher bei der tödtlichen Infection mit dem Bac. coli, dessen tödtliche Dosis 0·00001 betrug). Auch eine Phagocytose findet dabei zum Theil statt. Wie immer bei der Phagocytose, enthalten auch hier nur wenige Zellen in ihrem Innern Mikroben; im Falle von Milzbrandinfection waren es ausschliesslich grosse, einkernige, endotheliale Zellen. Bei der letzteren Infection konnten wir im Innern dieser Zellen ausschliesslich halbzerstörte, abgetödtete Formen sehen. Die Zahl der Mikroben — wenn wir alle studirten Infectionen überblicken —, welche sich innerhalb der Phagocyten befanden, war so verschwindend klein im Vergleich zur colossalen Zahl der Individuen, welche ausserhalb der Zellen ihren Untergang fanden, dass es ganz belanglos wäre, mit der Phagocytose zu rechnen, die dazu noch in Bezug auf die Vernichtung der Mikroben im Organismus zu viel Dunkles enthält.[1] Bei der Färbung der Präparate mit Methylenblau könnte man in Bezug auf die Infectionen mit Cholera, Typhus u. s. w. (nicht aber mit Milzbrand, wo auch das Methylenblau deutlich genug die wahre Sachlage ergiebt) behaupten, dass der Mikrobenuntergang hauptsächlich innerhalb der Polynucleären u. s. w. stattfindet. Es wäre dies deshalb möglich, weil man innerhalb der Leukocyten bei dieser Färbung runde Individuen (Pfeiffer'sches Phänomen), aufgeblähte blasse, daneben auch Individuen von normalem Aussehen sehen kann, ausserhalb der Leukocyten aber sieht man so etwas gar nicht, oder es sind da wenig degenerirte Individuen zu sehen. Ein solches Bild ist beim Studium der tödtlichen Infection etwas Gewöhnliches. So hebt auch Deutsch[2] als eine interessante Thatsache hervor, dass man bei einer tödtlichen, intraperitonealen typhösen Infection eines Meerschweinchens innerhalb der Leukocyten fast ausschliesslich runde Gebilde (Pfeiffer-sches Phänomen) sehen kann, während ausserhalb derselben nur Bacillenformen sichtbar sind. Daraus scheint der Schluss zu folgen, dass eben innerhalb der Leukocyten, vermöge ihrer Einwirkung auf den Mikroben, der letztere eine runde Form annimmt bezw. degenerirt. Deutsch hütet sich, einen solchen Schluss zu ziehen, und ganz mit Recht. In Wirklichkeit giebt es gar nichts dergleichen. Das Methylenblau leistet eben sehr schlechte Dienste beim Studium der Frage der Mikrobendegeneration in Bezug auf die nach Gram nicht färbbaren Mikroben.

---

[1] Aquist (*diese Zeitschrift*, Bd. XXI) hat gezeigt, dass die Mikroben innerhalb der Leukocyten gerathen können nicht wegen einer activen Mitwirkung der letzteren, sondern vermöge rein physikalischer Gesetze.

[2] Deutsch, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1899.



Die Färbung mit der angegebenen Fuchsinlösung oder mit Gentianaviolett während einer Stunde zeigt, dass die Mikrobendegeneration fast ausschliesslich ausserhalb der Leukocyten stattfindet, dass das Pfeiffer'sche Phänomen ebendaselbst im grössten Umfange statt hat. Der Grund, warum man bei der Färbung mit Methylenblau zuweilen viele runde Gebilde innerhalb der Polynucleären und sehr wenig ausserhalb der Zellen sieht, ist ein doppelter.

Erstens ist das Methylenblau entfernt nicht im Stande, alle diejenigen Stadien zu färben, durch welche der Mikrob durchgeht, indem er das Pfeiffer'sche Phänomen durchmacht; das ist der Grund, warum die Fuchsinfärbung eine Masse degenerirter Individüen ausserhalb der Zellen entdeckt, eine so grosse Masse, dass die Zahl der runden Gebilde innerhalb der Leukocyten jede Bedeutung verliert. Zweitens besitzen (?) die Polynucleären, überhaupt die Phagocyten, eine sehr schwache zerstörende Fähigkeit in Bezug auf die Mikroben, welche Fähigkeit im Vergleiche zur zerstörenden Wirkung der Säfte ganz unbedeutend ist. Sawtschenko[1] hat z. B. die Thatsache festgestellt, dass die Milzbrandbacillen fast ohne Veränderung innerhalb der Leukocyten einer weissen Ratte blieben, während sie ausserhalb der Zellen schnell zu Grunde gingen. Dann ist es verständlich, warum man innerhalb der Leukocyten viele runde Gebilde sieht und ausserhalb derselben wenig. Die Leukocyten — und das ist der zweite Grund — innerhalb welche degenerirte Mikroben geriethen, werden zur Ablagerungsstätte für diese degenerirten Formen. Während ausserhalb der Zellen der Mikrob rasch durch alle Stadien der Zerstörung hindurchgeht (weshalb man auch ausserhalb der Zellen wenig runde Formen bei der Methylenblaufärbung sieht), ist er innerhalb der Zellen vor der Wirkung der Säfte geschützt, eine Zeit lang wenigstens; erst nach einer Verspätung verschwindet der Mikrob auch innerhalb der Zellen unter der Einwirkung von Kräften, welche noch gar nicht erwiesen sind.

Das eben Gesagte resümirend, kann man den Satz formuliren, dass bei der tödtlichen Infection die Mikroben in den Säften des Organismus zerstört werden. Eine Zerstörung innerhalb der Leukocyten, wenn eine solche überhaupt stattfindet, geschieht nur in ganz unbedeutendem Umfange; sie ist eine nebensächliche Erscheinung, welche mit dem Wesen des Processes nichts zu thun hat. Ausserdem fehlten die Leukocyten und Phagocyten der Regel nach ganz bei der Infection mit dem Pneumococcus in dem Processe, welcher sich im subcutanen Zellgewebe abspielte. In diesem Falle wurde der Mikrob nur in den

[1] Sawtschenko, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897.

Säften, in der serösen, ganz klaren Flüssigkeit ohne jede Blutbeimengung zerstört.

Um zur Frage von der Herkunft der baktericiden Stoffe der Säfte des Organismus bei der tödtlichen Infection überzugehen, müssen wir zuerst den Charakter dieser Stoffe bestimmen.

Aus unserer Beschreibung der verschiedenen tödtlichen Infectionen geht hervor, dass der von uns in Bezug auf den Bac. coli aufgestellte Satz auch für diese gilt: während der tödtlichen Infection werden im Organismus unter dem Einflusse des inficirenden Mikroben Stoffe gebildet, die den inficirenden Mikroben zerstören. Diese Annahme folgt mit Klarheit aus der vollständig genau festgestellten Thatsache, dass in der zweiten Periode der Infection die Zerstörung des Mikroben in viel höherem Maasse zu Stande kommt als in der ersten: bei der Milzbrandinfection kommt die Zerstörung des Mikroben, so zu sagen, nur im zweiten Stadium der Infection zu Stande. Weiter unten werden wir die Gründe, warum nur eine solche Annahme zulässig ist, näher auseinandersetzen.

Ist aber dieser Satz einmal festgestellt, so ist damit darauf hingewiesen, dass die Stoffe, welche die Bakterien während der tödtlichen Infection zerstören, eben dieselben baktericiden, Bakterien zerstörende Stoffe sind, welche im Organismus während der Immunisation ausgebildet werden. Der Unterschied zwischen beiden Stoffen ist nur der, dass im Falle der Immunisation schliesslich Stoffe von ausserordentlicher Kraft und Specifität ausgebildet werden, während im Falle der tödtlichen Infection wir nur die ersten, aber ganz deutlich ausgesprochenen Phasen der Ausbildung dieser Stoffe beobachten.

Ist dem aber so, so ist die Frage von der Herkunft der baktericiden Stoffe bei der tödtlichen Infection von selbst gelöst. Beide Stoffe werden offenbar im Organismus durch denselben Mechanismus gebildet. Die Frage von der Immunität, von der Entstehung der bakteriolytischen Stoffe hat eine sehr grosse Litteratur, und in einigen ihren Theilen kann sie als endgültig gelöst erachtet werden. So kann als gelöst die Frage betrachtet werden, ob die Mikroben durch die Phagocytose zu Grunde gehen, oder ob die Zellen — die Quelle aller complicirten, den Fermenten analog wirkenden löslichen Stoffe des Organismus — nur mittelbar, indem sie für den Mikroben schädliche Stoffe fabriciren, auf die Mikroben zerstörend einwirken, und zwar so, dass die von ihnen fabricirten Stoffe in die Säfte des Organismus hinein gerathen und dann an einer beliebigen Stelle des Organismus ihre Wirkung entfalten. In seiner bekannten klassischen Arbeit zeigte Pfeiffer, dass ein Mikrob im Organismus ohne Phagocytenmitwirkung zerstört werden kann. Damit war der entscheidende Schlag der Anschauung ertheilt, dass die Phagocytose das Hauptwerkzeug der Im-



munität im Organismus ist, dass darin ihr biologischer Sinn zu erblicken ist. Gabritschewsky[1] zeigte, dass auch die ersten Thatsachen, welche der Behauptung, dass der Organismus sich vermöge der Phagocytose der Mikroben entledige, als Ausgangspunkt dienten, falsch sind. Bei der Febris recurrens entledigt sich der Organismus der Mikroben vermöge der von ihm ausgearbeiteten, in seinen Säften enthaltenen baktericiden Stoffe, nicht aber mittels der Phagocytose. Letztere spielt fast keine Rolle bei der Zerstörung der Spirillen. Zwar könnte man noch annehmen, dass, wenn auch die Phagocytose in den Pfeiffer'schen Versuchen fehlte, so es doch die Phagocyten waren, welche die baktericiden Säfte während der Immunität ausgearbeitet hatten. Dann würde zwar die Phagocytose ihre Bedeutung verlieren, aber es würde die Einheit des Principes erhalten werden in der Anschauung, dass die Phagocyten (aber nicht die Phagocytose) als Hauptwerkzeug der Immunität dienen. In der That aber stellte sich etwas anderes heraus. Durch mathematisch genaue Versuche zeigte Pfeiffer, dass nicht die Phagocyten die baktericiden Stoffe bei der Cholera liefern. Deutsch[2] überzeugte sich, indem er nach der Pfeiffer'schen Methode arbeitete, dass das Exsudat, welches Phagocyten in reichlicher Menge enthält, nicht auch baktericide Stoffe in reichlicher Menge enthält. Auf solche Weise verloren die Phagocytose und die phagocitären Zellen ihre Bedeutung für die Immunität unwiderruflich. Es kann natürlich keine Rede sein von einer Immunität nach zwei Principien: durch Säfte, welche nicht von den Phagocyten fabricirte Stoffe enthalten, und durch die Phagocytose. Die Processe, welche bei der unmittelbaren Mitwirkung des thierischen Organismus studirt werden, finden immer bei zu complicirten Bedingungen statt, sie werden von einer Menge Neben- und Folgeerscheinungen begleitet. Zur Zahl solcher Neben- und Folgeerscheinungen gehört auch die Phagocytose, mit welcher das Wesen, das Princip der Immunität, als einer dem Sinne nach einheitlichen Erscheinung nichts Gemeinsames hat. Als vollkommen feste Errungenschaften der Wissenschaft kann man die folgenden Sätze betrachten: 1. Das Princip der Immunität besteht darin, dass die Zellen des Organismus baktericide Stoffe ausarbeiten, welche, indem sie in die Säfte des Organismus gelangen, die Mikroben überall zerstören, wo die letzteren sich befinden. 2. Die Phagocyten und die Phagocytose haben nichts Gemeinsames mit dem Princip der Immunität der Thiere den Mikroben gegenüber.

Die von uns studirten Processe der tödtlichen Infection verleihen den schon festgestellten Sätzen eine neue, sehr de-

[1] Gabritschewsky, *Ruskij Archiv Pathologji.* 1896.

[2] Deutsch, a. a. O.



monstrable Stütze. Andererseits wurde von Pfeiffer und dann von Wassermann und Deutsch bewiesen, dass als Bildungsstätten der baktericiden Stoffe in erster Linie die Milz und die Lymphdrüsen, dann noch das Knochenmark dienen. Da es festgestellt ist, dass nicht die Phagocyten die baktericiden Stoffe bilden, so kann man folglich bei der Lösung der Frage über die Art der Zellen, die eben diese Function verrichten, alle Zellen der erwähnten Organe in Betracht ziehen, ausser denjenigen, die einen Antheil bei der bakteriellen Phagocytose nehmen. Sind das etwa die zu den Phagocyten nicht gehörenden Lymphocyten, welche noch dazu fast nur aus einem Kern bestehen und, nach der Meinung einiger Autoren, eine ganz selbstständige Zellengruppe darstellen, die mit den typischen Phagocyten in keinem genetischen Zusammenhange steht?

Die von uns oben angeführten Sätze in ihrer zum Theil positiven, zum Theil negativen Form in Bezug auf die Immunität, gelten offenbar auch für die baktericiden Stoffe, welche im Organismus bei der tödtlichen Infection erscheinen. Die Vergrösserung der Milz in bedeutendem Umfange, die wir constatirten bei den mehr als 36 Stunden dauernden tödtlichen Infectionen, welche durch die Sporen des Milzbrandbacillus, den Streptococcus, Pneumococcus hervorgerufen wurden, giebt einen Anhaltspunkt zur Anwendung der obenerwähnten Sätze auch auf die Processe der tödtlichen Infection.

Wir haben oben hingewiesen, wie, nach unserer Meinung, die Thatsache der ungeheueren Mikrobenzerstörung im Verlaufe der tödtlichen Infection gedeutet werden müsse, nämlich im Sinne einer Ausbildung von baktericiden Stoffen vom thierischen Organismus während der Infection selbst, unter dem Einflusse des inficirenden Mikroben. Mit einem Worte, es muss anerkannt werden, dass der thierische Organismus sich während der tödtlichen Infection gegen den Mikroben bis zu einem gewissen Grade immunisirt.

Wir kennen keine ernsten Einwendungen, die man diesem Standpunkte entgegenstellen könnte. Wir sehen aber eine Menge Thatsachen, welche zu Gunsten dieses Standpunktes sprechen. Wir haben oben die Hauptbeweise angedeutet: die ungeheuere Zerstörung, welche besonders im zweiten Stadium der Infection ausgesprochen ist. Es ist unmöglich, die ungeheuere Mikrobenzerstörung nur auf Schuld der normaliter im Organismus anwesenden baktericiden Kräfte zu schieben. Bei einer solchen Annahme wird es ganz unverständlich sein, wie die Vermehrung eines hoch virulenten Mikroben im zweiten Stadium der Infection zu gleicher Zeit mit seiner Zerstörung vor sich gehen kann, von welcher Zerstörung man nicht behaupten kann, dass sie bemerkbar sinke in dem Maasse, als

die Infection dem Ende naht. Wenn für die ersten Stunden die Wirkung der normal im Organismus vorhandenen baktericiden Stoffe zugegeben werden kann, so müsste sich der Mikrob je weiter, desto mehr an diese Stoffe anpassen, indem er sich unter ihrer Einwirkung vermehrt. Daraus würde folgen, dass in der zweiten Periode der Infection der Mikrob sich nur vermehren müsse. Die Thatsachen beweisen das Entgegengesetzte. Das Gesagte gilt besonders für die sehr stark virulenten Mikroben, wie der Pneumococcus (früher Bac. coli bei einer tödtlichen Dosis von 0·00001), von denen bekannt ist, dass sie das Thier zu Grunde richten, ganz unabhängig davon, wohin sie eingeführt werden, in die Bauchhöhle, in's Blut oder unter die Haut.

Es bleibt nur übrig, eine Ausbildung, ein Anwachsen von baktericiden Stoffen im Organismus anzunehmen. Bei einer solchen Annahme stellt die tödtliche Infection das Bild einer gegenseitigen Zurückwirkung zweier Factoren auf einander dar: der inficirenden Mikroben und der zelligen Elemente des Organismus. Der inficirende Mikrob hat die Aufgabe, auf Kosten der Säfte des Organismus sich zu vermehren, der Organismus dagegen hat die Aufgabe, die Mikroben zu tödten, welche sich in ihm eingenistet haben und ihm fremd sind. Beide Factoren sind einer Schmiegsamkeit fähig, welche ihrer Vitalität zu Grunde liegt: der Mikrob kann seine Virulenz erhöhen und sich rascher vermehren, die Zellen des Organismus können immer reichlichere und ihrer Wirkung nach immer stärkere baktericide Stoffe produciren. Daher wird das ganze Bild der tödtlichen Infection verständlich. In ihren ersten Stunden wird sich der virulente Mikrob hauptsächlich vermehren, zu gleicher Zeit — soweit nicht die normalen baktericiden Kräfte den Mikroben zum Theil zu Grunde richten — beginnen die Zellen des Organismus immer mehr und kräftigere baktericide Stoffe zu produciren. Am Anfange des zweiten Stadiums kommen die Resultate des ersteren zum Vorschein: die baktericiden Kräfte entfalten ihre Wirkung immer stärker, ausgesprochener, es findet eine kolossale Mikrobenzerstörung statt. Der weitere Verlauf wird durch den Grad der Virulenz des eingeführten Mikroben bedingt. Hatte der Mikrob keine sehr grosse Virulenz aufzuweisen, so wird seine Anpassungsfähigkeit an die baktericiden Stoffe immer schwächer, der Mikrob vermehrt sich wenig oder er ist gar nicht im Stande, sich zu vermehren. Dies bildet das dritte Stadium, welches der Verminderung der Mikrobenzahl nach deren vorausgegangener Vermehrung entspricht. Dieses dritte Stadium wird nur bei nicht sehr stark virulenten Mikroben stattfinden. Bei ausserordentlich virulenten Mikroben findet dieses Stadium nicht statt: der Mikrob, welcher über eine ausserordentlich entwickelte Anpassungsfähigkeit verfügt, fährt fort, sich zu vermehren; die Zellen des Organismus



produciren der Virulenz des Mikroben im gegebenen Momente entsprechende bakterieide Stoffe von grösserer Kraft: der Mikrob geht zu Grunde, während er sich vermehrt. Zu gleicher Zeit aber geht auch der thierische Organismus zu Grunde.

Der Mikrob wird zerstört während der tödtlichen Infection, aber zu gleicher Zeit gehen, eben wegen dieser Zerstörung, Bestandtheile des Mikroben in Lösung. Cantani[1], Mafucci[1], Straus[1], Gamaleia[1] und Pfeiffer[1] zeigten, dass das stärkste Gift eben im Körper des Mikroben selbst steckt. Indem das Gift löslich wird, giebt es das klinische Bild der Infection. Das Gift wird theils seinerseits neutralisirt, theils tritt es in Verbindung mit entsprechenden, für das Leben des Organismus wichtigen Zellen, und das Thier geht zu Grunde. Weit oben, bei der Beschreibung der einzelnen Infectionen, haben wir in Bezug auf die Mehrzahl der studirten Mikroben gezeigt, dass eine abgetödtete, in den Organismus eingeführte Mikrobencultur rasch in demselben verschwindet, indem sie Bilder liefert, die im Princip ganz analog sind den Bildern bei der tödtlichen Infection mit dem lebendigen Mikroben. Folglich haben wir es in beiden Fällen mit Bildern des Uebergehens des Mikroben in Lösung, seiner gründlichen Zerstörung zu thun.

Gegen die erwähnte Deutung der Thatsache der Mikrobenzerstörung scheint der scheinbare Gegensatz zwischen den Processen der tödtlichen Infection und denjenigen Processen, welche zur Immunität des Thieres führen, zu sprechen. In der That sind aber diese Processe von derselben Natur und unterscheiden sich von einander nur quantitativ.

Bei der angegebenen Deutung stellt sich eine Einheit her zwischen den Processen der tödtlichen Infection und den Processen, welche zum Zustande der Immunität führen. Diesen beiden Processen liegen dieselben Erscheinungen zu Grunde; das Charakteristischste davon ist die Producirung von baktericiden Stoffen Seitens des Organismus. Nur muss man annehmen, dass die Producirung dieser Stoffe unmittelbar oder sehr kurz nach der Einführung des Mikroben stattfindet. Eine solche Annahme ist vollkommen natürlich. Man könnte einwenden, es sei schwer anzunehmen, dass der thierische Organismus baktericide Stoffe im zweiten Stadium der acuten Infection oder gar in Momenten, welche dem Tode noch näher liegen, producire. Der Organismus müsse durch die Infection so geschwächt sein, dass eine energische, dazu ganz neue Arbeit seinerseits unwahrscheinlich erscheinen müsse. In der That würde aber diese Einwendung keine festen Anhaltspunkte für sich haben. Man müsste nur z. B. an

[1] A. a. O.



die bekannte Euphorie der allerschwersten septischen Kranken buchstäblich vor dem Tode denken. Diese Erscheinung beseitigt am besten die Einwendung, welche in der „Depression“ des Organismus und dergleichen begründet wird. Wenn sogar das am feinsten funktionirende Centralnervensystem bis zu den letzten Minuten des Lebens so gut funktioniren kann, dass nur die Erfahrung des Arztes die Schwere der Lage würdigen kann, so könnte man doch dasselbe der Milz und den Lymphdrüsen zumuthen. Eine Temperaturerniedrigung findet sich in den allerspätesten Stadien des Processes. Es ist bekannt, dass Meerschweinchen nach einer Temperatur von 30° genesen. Die Zellen des Organismus gingen folglich bei dieser Temperatur nicht zu Grunde, d. h. sie setzten ihre Arbeit fort, obgleich vielleicht schwächer als bei normaler Temperatur.

Es braucht nicht hervorgehoben zu werden, dass eine hohe Temperatur gar keine nothwendige Bedingung ausmacht für die Producirung von bactericiden Stoffen. In unseren früheren Versuchen mit der Immunitation von Kaninchen durch abgetödtete Culturen des Bacillus coli bekamen wir Immunität, ohne dass sich dabei die geringste Temperaturerhöhung bemerkbar machte.

Auf den ersten Blick erscheint die Thatsache der gleichzeitigen Vermehrung und Zerstörung der Mikroben, welche sich bei denselben Bedingungen finden, als unverständlich: in derselben Bauchhöhlenflüssigkeit, in demselben Blute muss der Mikrob ganz entgegengesetzte, einander paralysirende Bedingungen finden. In der Wirklichkeit ist sowohl die Bauchhöhle als auch das Blutgefässsystem ihrem Umfange nach für den mikroskopischen Mikroben unendlich gross. Schon bei normalen Bedingungen ist es unmöglich anzunehmen, dass jede Volumeinheit der Bauchhöhle unbedingt gleichwerthig sei einer jeden anderen Einheit nach ihrem Inhalte, nach dem Charakter der darin enthaltenen Elemente. Die Ernährung der Zellen, der darin enthaltenen Organe, der Stoffwechsel im Allgemeinen, d. h. die Assimilation gewisser Stoffe, die Dissimilation anderer schaffen solche Bedingungen, welchen zu Folge an einer Stelle der Bauchhöhle sich gar nicht ganz dasselbe abspielt, als an einer anderen Stelle. Dasselbe gilt auch in Bezug auf die Masse des Blutes des Thierorganismus. Das, was bei normalen Verhältnissen stattfindet, tritt noch schärfer hervor bei den Bedingungen der tödtlichen Infection. Im letzteren Falle kommen drei neue Momente zur Geltung.

Nach den allgemein gültigen Anschauungen über die Production von bactericiden Stoffen, treten die letzteren, nachdem sie in der Milz und in den Lymphdrüsen zur Ausbildung gekommen sind, in die Säfte des Organismus (Blut, Lymphe) und werden über den ganzen Körper transportirt. Der Ein-



tritt derselben in die Bauchhöhle, in dieses erweiterte Lymphgefäss, findet an bestimmten zahlreichen Punkten der weiten Oberfläche der Bauchhöhle statt. Indem diese Stoffe in die Bauchhöhle eindringen, erscheinen sie an den Eintrittsstellen in der grössten Concentration; in dem Maasse, als sich diese Stoffe von den Eintrittsstellen entfernen, wird ihre Concentration — wegen ihrer Mischung mit der normalen Lymphe — immer schwächer; damit vermindert sich auch ihre Verderblichkeit für die Mikroben. Diese Verderblichkeit wird um so weniger ausgesprochen sein, je mehr der Mikrob von den Eintrittsstellen der baktericiden Stoffe in die Bauchhöhle entfernt ist. Die verbrauchten baktericiden Stoffe werden durch neue ersetzt. Auf solche Weise stellt sich ein dauernder Strom baktericider Stoffe von den Wänden der Bauchhöhle zu den centralen Partieen ein, welche zwischen den beiden Peritonealblättern und zwischen zwei Eintrittspunkten der baktericiden Stoffe gelegen sind. Auf der ganzen Strecke dieses Stromes werden für die Mikroben immer weniger ungünstige Bedingungen stattfinden.

Die baktericide Substanz wirkt auf den Mikroben, indem sie mit ihm eine Verbindung eingeht. Das ist der zweite Punkt der gegenwärtigen Vorstellungen von der Wirkung der baktericiden Stoffe. Stellen wir uns vor, dass in einer gewissen Volumeinheit der peritonealen Flüssigkeit sich ein gewisses Quantum baktericider Stoffe einerseits und eine gewisse Menge Mikroben andererseits findet. Die baktericiden Stoffe gehen — Dank ihrer specifischen Eigenschaften — eine Verbindung ein mit den sich daselbst befindenden Mikroben, die Mikroben — wie man sich auszudrücken pflegt — fixiren auf sich diese Substanzen. In Folge dessen wird die genannte Volumeinheit von baktericiden Stoffen frei, d. h. es werden sich darin wieder Bedingungen herstellen, welche für die weitere Vermehrung von stärkeren Mikroben, die sich eben daselbst oder in der benachbarten Volumeinheit vorfinden, günstig sind. Auf solche Weise ist es leicht denkbar, dass in den verschiedenen Punkten der Bauchhöhle, des Blutes oder eines beliebigen anderen Organes eine beständige Schwankung in der Spannung der baktericiden Stoffe stattfinden muss. Bedenkt man, dass der Mikrob seiner Natur nach nicht etwas Beständiges, Stabiles darstellt, sondern befähigt ist, sein Wesen zu verändern, zu verfeinern, an die äusseren Verhältnisse anzupassen, so wird man die Wichtigkeit der Schwankung in der Spannung der baktericiden Stoffe an verschiedenen Punkten des Peritoneums begreifen. Diese Schwankung in der Spannung braucht, laut dem Gesagten, eben nicht einmal bis Null abzusinken, d. h. bis zur völligen Befreiung irgend einer Volumeinheit von den baktericiden Stoffen. Sollte eine solche vollständige Befreiung auch eintreten, so kann sie nur eine sehr kurze Zeit bestehen bleiben, denn es bilden sich sofort



neue Ströme aus den benachbarten Punkten. Es ist schwer anzunehmen, dass der Mikrob zur Vermehrung eben so viel Zeit braucht, als die gegebene Volumeinheit von den baktericiden Stoffen vollständig frei sein wird. Eben wegen der Anpassungsfähigkeit des Mikroben, genügt schon die blosse Schwankung in der Spannung der bakteriolytischen Substanzen dazu, dass die stärkeren Individuen sich vermehren könnten, ungeachtet der Zerstörung anderer Individuen in der Nachbarschaft.

Als drittes Moment, welches die Vermehrung des Mikroben zu gleicher Zeit mit seinem Untergange erklärt, erscheint die ungleichmässige Widerstandskraft des Mikroben in den verschiedenen Stadien seines Wachsthums. Ein ausgewachsener Mikrob wird wohl den zerstörenden Kräften mehr Widerstand zu leisten vermögen, als ein junger eben durch Theilung gebildeter Mikrob. Nach dem Gesagten ist es leicht, sich solche Bedingungen vorzustellen, bei denen der junge Mikrob auf sich die baktericiden Stoffe mit grösserer Leichtigkeit fixirt, als der neben ihm sich befindende reifere Mikrob, welcher, in einer Sphäre von herabgesetzter Intensität dieser Stoffe heranwachsend, in Folge dessen die Möglichkeit bekommt, sich kräftiger zu entwickeln eben wegen der ihn umgebenden baktericiden Substanzen.

Nach all' dem Gesagten wird der Parallelismus der entgegengesetzten Processe, welche bei der tödtlichen Infection stattfinden, verständlich.

Das Wechselspiel der drei erwähnten Momente erklärt, dass die Begriffe von „Gegensatz" und „Parallelismus" zu gleicher Zeit nur in Bezug auf die Bauchhöhle, das Blut oder auf ein gewisses Organ als Ganzes stattfinden. In Wirklichkeit geht in einem gewissen Momente an jedem einzelnen Punkte nur ein Process vor sich, welcher im nächsten Momente durch einen anderen, ihm entgegengesetzten abgelöst werden kann. Die wechselseitige Ablösung solcher entgegengesetzter Processe, welche während einer ganzen Reihe von Momenten (d. h. während der ganzen Dauer der Infection) andauert, erklärt sich leicht durch den Charakter der zwei Hauptelemente der Infection. Sowohl der Mikrob als auch die Zellen des Organismus sind im Stande, ihre Natur und ihre Thätigkeit zu verfeinern. In Folge dessen kann jeder von den zwei entgegengesetzten Processen, obgleich er während der ganzen Infectionsdauer dem Sinne nach derselbe bleibt, dem Wesen nach verschieden sein von dem gleichen Processe, welcher in einem anderen Momente der Infection stattfindet. In einem Momente kann der schwächere Mikrob zerstört werden, in den späteren Perioden der stärkere: der Process ist dem Sinne nach derselbe, aber die dabei thätigen Kräfte müssen offenbar etwas anders gestaltet sein. Dasselbe gilt auch in Bezug auf die Anpassungsfähigkeit des sich

vermehrenden Mikroben. Während der tödtlichen Infection findet folglich nicht nur eine Ablösung zweier entgegengesetzter Processe statt, sondern auch jeder von diesen Processen seinerseits wechselt, schwankt im Sinne einer immer grösseren Anpassung an den, seinem Sinne nach entgegengesetzten Process, welcher in der Nachbarschaft vor sich geht.

Die von uns beschriebenen Bilder, welche bei der tödtlichen Infection statt finden, bieten auch desshalb ein Interesse dar, weil sie eine vollständig genügende Erklärung einer Erscheinung geben, welche schon zu Pasteur's Zeiten bekannt war. Bei auf einander folgender Passage durch den Thierorganismus wird der Mikrob bekanntlich immer virulenter. Schon oben haben wir erwähnt, welche unendlich kleine Grössen die minimalste tödtliche Dosis des Mikroben bei der Passage erreichen kann. Auf dem Wege der Passage gelingt es, nicht nur die Virulenz eines gegebenen Mikroben auf derselben Höhe zu erhalten, sondern auch die Natur des Mikroben im Sinne seiner Widerstandsfähigkeit den normalen baktericiden Säften des Organismus gegenüber tief greifend zu verändern.

Gegenwärtig kann man die Virulenz als den Grad der Affinität zwischen dem Mikroben und den normalen baktericiden Säften definiren: der Mikrob ist desto virulenter, je kleiner diese Affinität ist, und umgekehrt. Den virulenten Mikroben kann man auf solche Weise in verschiedenem Grade bakteriolytisch negativ nennen; den nicht virulenten bakteriolytisch positiv. Bei einer sehr hohen Virulenz, wo in den Organismus bloss einige Individuen eingeführt werden, existirt im erwähnten Sinne gar keine Affinität: der Mikrob vermehrt sich bis zu einem gewissen Zeitpunkte im Organismus — gleichgültig ob im Blute, ob in der Bauchhöhle oder subcutan — ohne jeden Verlust, gleich wie in einem künstlichen Nährmedium. So verhalten sich unter anderem die Mikroben der verheerenden Epidemieen.

Umgekehrt muss bei wenig virulenten Mikroben eine gewisse Zahl von Individuen sich aufopfern für die stärkeren Individuen derselben Cultur: die weniger kräftigen Individuen müssen auf sich die baktericiden Stoffe des Organismus fixiren, sie müssen untergehen, um das Feld zu räumen, um die Säfte günstig zu machen für andere Individuen, welche eine schwächere Affinität zu den baktericiden Stoffen besitzen.

Im weiteren Verlaufe kommt sowohl beim wenig virulenten, als auch beim hoch virulenten Mikroben eine immer stärkere Ausbildung der Widerstandsfähigkeit den baktericiden Stoffen gegenüber zu Stande.

Nehmen wir an, dass der gegebene Mikrob einer ganzen Serie von Passagen unterworfen war, so dass seine Virulenz für ein gewisses Thier die Grenzen der möglichen Theilung der Mikrobencultur erreicht, so resultirt zuletzt ein Mikrob von so hoher Virulenz, dass die normale



Baktericidität der Säfte des Organismus in Bezug auf denselben gar keine Wirkung hat. Aber andererseits müsste dieser Mikrob sich an die Verderblichkeit nicht nur der normalen baktericiden Stoffe anpassen, sondern auch derjenigen, welche vom thierischen Organismus im Verlaufe der tödtlichen Infection producirt werden, welche Stoffe in ihrer Kraft die normalen baktericiden Stoffe übertreffen. In der That kann eine solche Anpassung, wie hoch ihre Entwickelung auch sein mag, niemals die Fähigkeit der Zellen des thierischen Organismus, sich an den in den Organismus eingeführten, noch so hoch virulenten Mikroben anzupassen, überschreiten. Die Zellen des Organismus stehen ihrer Structur nach höher, sie sind befähigt, eine feinere Energie geltend zu machen als die Zelle des Mikroben, welche eine niedrige Stufe in der Reihe der organisirten, lebendigen Natur einnehmen.

Auf solche Weise tritt der Unterschied zwischen der tödtlichen und nicht tödtlichen Infection in Bezug auf die Reaction Seitens des thierischen Organismus erst in einer späteren Periode der Infection auf, wo der thierische Organismus bei der tödtlichen Infection durch die Producte der Zerstörung des Mikroben schwer vergiftet wird: die Anfangsstadien der Infection beiderlei Art sind im Sinne der Reaction Seitens des thierischen Organismus mit einander identisch.

Die Zerstörung der in den Organismus eingedrungenen Noxe bildet die principielle Lebensaufgabe des thierischen Organismus. In Bezug auf den Mikroben summirt sich die Noxe aus zwei Momenten: der Mikrob ist schädlich als lebendiges Wesen, welches befähigt ist, die Summe seiner Schädlichkeit beliebig zu steigern, andererseits ist der Mikrob als Träger eines specifischen Giftes schädlich. Zu gleicher Zeit mit dem lebenden Körper des Mikroben muss auch sein Gift zerstört werden. Im Verlaufe der tödtlichen Infection muss offenbar beides stattfinden. Aber dabei geht zuerst der Mikrob zu Grunde, dann wird sein Gift zerstört. Mit anderen Worten, in jedem Momente der Infection wird sich das Gift bis zu einem gewissen Grade anhäufen im Vergleiche zur Zahl der zerstörten Mikroben. Der Process der Zerstörung des Giftes wird immer eine Verspätung erfahren im Vergleiche zum Processe der Zerstörung des Mikroben. Da bei der tödtlichen Infection, beim virulenten Mikroben, der letztere sich ungeachtet seines Unterganges in der Nachbarschaft vermehrt, so ist die Anhäufung des Giftes verständlich. Andererseits ist anzunehmen, dass die Zerstörung des Mikroben als lebendes Wesen für den Thierorganismus eine leichtere Aufgabe darstellt, deren Lösung mehr ausgebildet, vererbt ist, als dessen Fähigkeit, auf die eine oder andere Weise auch das Gift zu



zerstören, zu „neutralisiren". Die hauptsächlichen chemischen Processe, welche beiden Vorgängen zu Grunde liegen, müssen offenbar unter einander verschieden sein. Der Process der „Mikrobenauflösung" erscheint als vorbereitender Act zum Processe der Giftneutralisation.

Aus dem Gesagten wird es verständlich, warum die erwähnte Grundeigenschaft der tödtlichen Infection, baktericide Stoffe in Bezug auf die Gruppe der septicämischen Mikroben zu produciren, auch in Bezug auf die Gruppe der rein toxischen Mikroben statthaben muss.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I.)

Fig. 1. Milzbrandinfection bei einem Meerschweinchen, durch intraperitoneale Sporenfadeneinverleibung hervorgerufen. Exsudat nach 8 Stunden. Ziel'sche Carbolfuchsinlösung 1:30. Färbungsdauer 1 Stunde.

Fig. 2. Derselbe Fall. Exsudat nach 11 Stunden. Dieselbe Färbungsmethode.

Fig. 3. Cholerainfection bei einem Meerschweinchen. Exsudat nach 6 Stunden. Dieselbe Färbungsmethode.

Fig. 4. Derselbe Fall. Färbung vermittelst Ehrlich'scher Gentianaviolett-Lösung 1:30. Färbungsdauer 1 Stunde.

Fig. 5. Pyocyaneusinfection ($^1/_{15}$ einer Agarcultur). Exsudat nach 6 Stunden. Ziel'sche Lösung 1:30. 1 Stunde.

Fig. 6. Pyocyaneusinfection ($^1/_{60}$ Agarcultur; nach 6 Stunden war der Mikrobe gänzlich verschwunden, Tod nach 10 Stunden). Exsudat nach 5 Stunden. Gentianaviolett-Lösung 1:30. 1 Stunde: ganz nette Kügelchenbildung.

Fig. 7. Streptokokkeninfection bei einem Kaninchen. Exsudat nach 14 Stunden. Ziel'sche Lösung 1:30. 1 Stunde.

Fig. 8. Dasselbe Exsudat. Blitzrasche Färbung mit Methylenblau Kühne.

Fig. 9. Pneumokokkeninfection bei einem Kaninchen. Oedemflüssigkeit nach 14 Stunden. Ziel'sche Lösung 1:30. 1 Stunde.

Fig. 10. Dieselbe Oedemflüssigkeit. Färbung mit Methylenblau. 1—2 Min.

Fig. 11. Coliinfection.[1] Exsudat nach 6 Stunden. Ziel'sche Lösung 1:30. 1 Stunde.

Fig. 12. Typhusinfection. Exsudat nach 6 Stunden. Dieselbe Färbungsmethode.

[1] A. Radziewsky, Beitrag zur Kenntniss des Bacterium coli. *Diese Zeitschrift*. Bd. XXXIV.



[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Universität Moskau.]

Ueber die Cultur der Lepraerreger.

Von

W. J. Kedrowski.

(Hierzu Taf. II.)

Schon gleich nach Entdeckung des Leprabacillus wurden Versuche angestellt, denselben in Reincultur zu erhalten. Trotzdem in den Beobachtungen der verschiedenen Autoren viel Gemeinschaftliches enthalten ist, bleibt die Frage der künstlichen Züchtung des Lepraerregers bis jetzt noch offen. Der Grund ist nach meiner Meinung darin zu sehen, dass beinahe alle Forscher, welche auf diesem Gebiete arbeiteten, sich mit sehr beschränktem und so zu sagen zufälligem Material begnügen mussten und daher sehr unbeständige Resultate erzielten: aus einem oder höchstens zwei Fällen gelang es, Reinculturen von Stäbchen zu gewinnen, welche morphologisch dem Leprabacillus ähnlich waren, während andere Fälle ein negatives Resultat ergaben. Nur Babes[1] allein erklärte schon im Jahre 1889, dass es ihm gelungen sei, aus allen drei Fällen, welche ihm zur Verfügung standen, ein und dieselbe Mikroorganismenform zu züchten, die ihren äusseren Eigenschaften nach dem Lepraerreger nahe stand. Es besass jedoch dieser Mikroorganismus ein wichtiges, dem Leprabacillus eigenes biologisches Kennzeichen nicht — eine gewisse Resistenz gegen Mineralsäuren — und nahm bei der Färbung nach Ziehl die Gegenfarbe an. Dieser Unterschied zwischen dem wirklichen Lepraerreger und dem Babes'schen Mikroorganismus war so wesentlich, dass der Autor selbst sich derzeit nicht bestimmt für ihre völlige Congruenz aussprechen wollte; in Folge dessen wurde seinem Befunde kein grosses Gewicht beigelegt.

[1] Cornil et Babes, *Les bactéries.* 1890. II. p. 486.



Späterhin erweiterte Babes[1] seine Untersuchungen, so dass die Zahl der von ihm untersuchten Fälle jetzt 12 beträgt. Die letzte Arbeit ist einstweilen erst in Form einer vorläufigen Mittheilung veröffentlicht, es genügt aber für mich der Hinweis, dass in dieser Arbeit die früheren Beobachtungen des Verfassers nicht nur bestätigt werden, sondern auch eine Erweiterung und vollständigere Begründung finden; es gelang Babes den früher beschriebenen völlig ähnliche Bakterien aus allen untersuchten Fällen zu züchten; nach ihren morphologischen Kennzeichen stehen dieselben der zahlreichen Gruppe der Diphtherideen (Babes) nahe und besitzen, ähnlich einigen Vertretern dieser Gruppe, eine partielle Säureresistenz: es bleiben nur die Kölbchen und Körner gefärbt.

Die Mehrzahl der übrigen Autoren, welche auf diesem Gebiete arbeiteten, erzielten Resultate, die den von Babes gewonnenen sehr nahe kamen. Es benützten dieselben jedoch ein weniger reiches Material und zudem in der Mehrzahl mit wechselndem Erfolg. So hatte z. B. Czaplewski[2] zwei Fälle von Lepra zu seiner Verfügung und züchtete nur aus einem von ihnen eine Reincultur.[3] Levy[4] benützte einen Fall, Spronk[5] drei, von welchen einer ein negatives Resultat ergab, Barannikoff[6] zwei, wobei er in beiden ein und dasselbe Resultat erzielte.[7]

Gesondert steht die Beobachtung von Bordoni-Uffreduzzi[8], welcher aus einem Falle von Lepra ein in jeder Hinsicht, sogar in seiner Säureresistenz, dem Leprabacillus ähnliches Stäbchen züchten konnte. Es erhielt dieses Stäbchen Bordoni nur in denjenigen Röhrchen, welche bei der Autopsie mit Knochenmark beschickt worden waren; die übrigen Röhrchen, welche mit Material aus anderen Organen und aus den Hautknoten beschickt worden waren, ergaben nichts Aehnliches. Der Verfasser selbst erklärt dieses Resultat dahin, dass die Bacillen nach seinen Untersuchungen nur im Knochenmark frei liegen, während sie in den übrigen Organen in „Leprazellen" eingeschlossen sind. — Die Arbeit von Giantureo, welche sich mit demselben Gegenstande beschäftigt, ist mir leider

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV. Nr. 4.

[2] *Ebenda.* Bd. XXIII. Nr. 4 u. 5.

[3] Auch in diesem „gelungenen" Falle scheint die Cultur nur aus dem Nasenschleim, nicht aus den Hautknoten erhalten zu sein.

[4] *Archiv für Hygiene.* Bd. XXX. Nr. 2. S. 168.

[5] *Semaine médicale.* 1898.

[6] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVI. Nr. 4 u. 5.

[7] Barannikoff theilte unlängst in einer Sitzung der Dermatologischen Gesellschaft in Charkoff noch einen dritten Fall mit, in welchem ihm die Züchtung eines den früheren ähnlichen Stäbchens gelang. *Wratsch.* 1900. Nr. 18.

[8] *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. III.



im Originale nicht zugänglich, aus dem ausführlichen Referate von Bordoni-Uffreduzzi[1] folgt jedoch, dass die von Gianturco aus einem Falle gezüchteten Bacillen vollständig den vom Referenten gewonnenen gleichen und sich nur durch ihre Beweglichkeit von denselben unterscheiden.

Alle angeführten Beobachtungen verdienen das grösste Zutrauen. Sie geben keine endgültige Antwort auf die Frage der künstlichen Züchtung des Lepraerregers, sie sind jedoch von hohem Werthe, indem sie für weitere Untersuchungen den richtigen Weg zu weisen scheinen, da sie im Allgemeinen sich gegenseitig nahe stehen und bloss in Einzelheiten differirende Resultate ergeben. Die Arbeiten von Campana, Ducrey, Unna u. A., welche abweichende Resultate ergaben, scheinen mir persönlich weniger begründet zu sein, weswegen ich auf die entsprechenden Originalarbeiten oder auf die Arbeit von Czaplewsky[2], welche die Litteraturangaben in genügender Vollständigkeit enthält, verweise.

Indem ich nun zu meinen persönlichen Beobachtungen übergehe, halte ich es für meine erste Pflicht, Hrn. Prof. A. J. Pospjeloff meinen herzlichen Dank für die Freundlichkeit auszusprechen, mit welcher er mir die Leprafälle aus seiner Klinik zur Verfügung stellte, sowie Hrn. Prof. O. W. Petersen für den herzlichen Empfang, welchen er mir beim Besuch der Dank seinen Bemühung bei Petersburg errichteten Leproserie erwies. Zugleich sage ich meinen Dank dem Director des pathologisch-anatomischen Instituts, Hrn. Prof. M. N. Nikiforoff für die so werthvollen Rathschläge, mit welchen er mir bei der Ausführung der vorliegenden, wie auch vieler früheren Arbeiten beistand.

Für die erste Beobachtung benützte ich einen Fall von Lepra, welchen Hr. Prof. A. J. Pospjeloff seinen Zuhörern am 1. X. 1899 vorstellte.

Einen Hautknoten, welcher durch Biopsie (ausgeführt vom Assistenten der Klinik, Hrn. Dr. S. O. Kracht) von dem Patienten gewonnen wurde, theilte ich in drei kleine Stückchen ein, von welchen eines gehärtet wurde, während die zwei anderen zur Cultur benutzt wurden. Mittels ausgeglühter Scheere wurden beide Stückchen von den oberen Hautschichten mit sammt der Epidermis befreit und das eine sogleich in ein Röhrchen mit geschmolzenem 2procent. Fleischpepton-Agar verbracht, in welchem es nach Erstarren des Nährbodens so zu sagen in sterilem Zustande conservirt wurde. Von dem anderen Stückchen wurden durch Ausstreichen mittels

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VI. S. 702. Vgl. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1891. S. 274.

[2] A. a. O.



eines spatelförmig zugehämmerten Platindrahtes mehrere Röhrchen mit erstarrtem Nährboden von besonderer von mir angegebener Zusammensetzung beschickt. Die Zubereitung dieses Nährbodens ist folgende:

Eine frisch ausgestossene menschliche Placenta wird mittels einer Fleischhackmaschine zerkleinert und darauf 18 bis 24 Stunden mit der $1^1/_2$-, 2- und sogar 3-fachen Menge destillirten Wassers stehen gelassen; man erhält eine Flüssigkeit von tief dunkelrother Farbe, welche durch ein Chamberland'sches Filter sterilisirt wird. Der Wasserzusatz differirt je nach den Eigenschaften der Placenta: je saftiger und blutreicher das Material ist, desto weniger Wasser wird zugesetzt, und umgekehrt; bei sehr magerer Beschaffenheit genügt schon ein Zusatz von 1:1. Die Filtration vollzieht sich in der Regel sehr langsam, aber stets sicher in Bezug auf Reinheit des erhaltenen Filtrates. Das Filtrat stellt eine durchsichtige Flüssigkeit dar von etwas hellerer rother Farbe, als das Infus vor der Filtration. Die Flüssigkeit wird steril in Reagensröhrchen verbracht und kann beinahe ohne Veränderung längere Zeit aufbewahrt werden, wenn nur durch entsprechende Maassregeln das Austrocknen verhütet wird. Nach 3 bis 4 Wochen nimmt die Flüssigkeit eine bräunliche Färbung an und verliert an Frische, ohne jedoch in ihrer Eigenschaft als Nährboden merklich einzubüssen, wenigstens soweit ich mich davon überzeugen konnte.

Es enthält also dieser Nährboden Hämoglobin (in ziemlich beträchtlicher Menge), Serumalbumin und Extractivstoffe der Placenta. Zu Culturzwecken wird es in Mischung mit festen oder flüssigen peptonhaltigen Nährboden benutzt; ich gebrauchte die gewöhnliche Fleischpeptonbouillon zur Erhaltung eines flüssigen und Agar-Agar zur Erhaltung eines festen Nährbodens. Sehr bequem konnte ich meinen Nährboden auch zu Plattenculturen benützen: die Anwendung ist dieselbe, wie sie von Wertheim für flüssiges Blutserum vorgeschlagen wurde und seitdem in allen Laboratorien prakticirt wird. Sowohl die Bouillon wie der Agar-Agar bleiben nach der Mischung durchsichtig und nehmen eine deutliche rothe Färbung an. Bei gewöhnlicher Temperatur können sie allem Anscheine nach ziemlich lange aufbewahrt werden. Im Thermostat dagegen verlieren sie alsbald ihre Durchsichtigkeit und nehmen eine braune Farbe an, was übrigens ohne Einfluss auf die darauf gesäten Culturen bleibt.

Durch zahlreiche vorhergehende Untersuchungen kam ich zu dem Schlusse, dass die Eigenschaften eines solchen Nährbodens sehr hoch zu stellen seien. Von 1898 bis 1899 konnte ich mit Hülfe desselben drei Mal Reinculturen von Tuberkelbacillen erzielen. Zum ersten dieser Versuche benützte ich Stückchen einer sehr tuberculösen Lunge (Pneumonia caseosa), in welcher sich bei der mikroskopischen Untersuchung des von der

Schnittfläche entnommenen Saftes massenhaft Tuberkelbacillen nachweisen liessen, während anderweitige Mikroorganismen nicht zu bemerken waren. Der zweite Versuch wurde in einem Falle von tuberculöser ulceröser Entzündung der Blasenschleimhaut angestellt. Zur Aussaat wurde das an Tuberkelbacillen reiche und für den Versuch steril gesammelte Harnsediment benützt. Im dritten Falle endlich wurde der Versuch mit tuberculösen Organen des Meerschweinchens (Leber und Milz) angestellt. Alle die angeführten Versuche waren von Erfolg: in den meisten der geimpften Röhrchen war nach 10 bis 12 Tagen das charakteristische Wachsthum der Tuberkelbacillen zu bemerken. Sogar in dem zweiten Falle, wo es sich um nicht ganz reines Material handelte (dem Sediment waren auch sonstige Mikroorganismen beigemischt), erwiesen sich aus 6 Röhrchen 2 nicht verunreinigt und ergaben zur gewöhnlichen Zeit Tuberkelbacillenwachsthum (die 4 übrigen Röhrchen waren unbrauchbar).

Derselbe Nährboden erwies sich nach den Untersuchungen des Hrn. Dr. W. J. Moltschanoff als sehr geeignet zur Cultur von Pfeiffer'schen Influenzabacillen, sowie nach den Untersuchungen des Hrn. Cand. med. Morosoff für Gonokokken. Gute Dienste erwies mir ebenfalls dieser Nährboden bei meiner zusammen mit Hrn. Dr. P. M. Newjadomski angestellten Arbeit über die Züchtung des Smegmabacillus in Reinculturen; während Glycerin-Agar und Blutserum nach Wassermann nur relativen Erfolg ergaben, wurden bei Benutzung des aus Placenta dargestellten Nährbodens überraschend gute Resultate erzielt. Ueber diese Versuche wird übrigens späterhin noch genauer berichtet werden; jetzt kehre ich zu jenen Beobachtungen zurück, welche ich beim ersten Gebrauch meines Nährbodens zur Züchtung von Leprabacillen machte.

Ich hatte also einige Röhrchen mit diesem Nährboden — in Mischung mit Agar schräg erstarrt — mit einem Stückchen geimpft, welches den tieferen Theilen eines von Epidermis entblössten Hautknotens entsprach. Zu gleicher Zeit wurden einige andere Röhrchen mit dem Blute des Patienten beschickt, das an der Operationsstelle in reichlicher Menge austrat und zahlreiche Leprabacillen enthielt, wie sich durch mikroskopische Untersuchung späterhin feststellen liess.

Die Röhrchen wurden mit Gummikappen verschlossen und darauf in den Thermostat (36 bis 37°) verbracht. Am 2. Tage ergaben 2 von den mit Blut beschickten Röhrchen Bakterienwachsthum. Am 3. Tage war Wachsthum (in Form eines reichlichen lockeren Belages) in den zwei übrigen ebenfalls mit Blut beschickten Röhrchen zu bemerken, ebenso in zwei von den mit den Hautstückchen beschickten; die übrigen von den letzteren ergaben erst am 4. Tage, eines davon sogar am 5. Tage Wachsthum.



Alle Culturen erschienen bei der äusseren Betrachtung einander ähnlich, nur dass die mit Blut beschickten reichlicheren Belag aufwiesen, als die aus dem Hautknoten geimpften. Die mikroskopische Untersuchung stellte fest, dass es sich um Culturen ein und desselben Stäbchens handle, welches morphologisch dem Leprabacillus sehr ähnlich war. Die specielle Färbung zeigte jedoch, dass die Stäbchen die Eigenschaft, der Säureentfärbung zu widerstehen, nicht besassen und bei der Behandlung nach Ziehl oder Ehrlich leicht die Gegenfarbe annahmen. Es konnte also auf den ersten Blick von einer völligen Aehnlichkeit des gewonnenen Stäbchens mit dem Leprabacillus nicht die Rede sein; da jedoch Czaplewsky und Spronk in ihren Arbeiten, welche sich mit dem Studium von Reinculturen des Leprabacillus befassen, diesem Bacillus die Reaction der verminderten Säureresistenz zuschreiben, so trat ich denn der Untersuchung der allgemeinen Eigenschaften des erhaltenen Stäbchens und speciell seines Verhältnisses zu den Säuren näher. Schon gleich von Anfang an stellte es sich heraus, dass das von mir gezüchtete Stäbchen bemerkenswerthe Aehnlichkeit mit dem Stäbchen von Czaplewski besitzt und sich genau wie dasselbe zur Specialfärbung verhält: bei Bearbeitung mit Alkohol entfärbt es sich beinahe gar nicht, es widersteht der Einwirkung schwacher Säuren (2·5 procentige Schwefelsäure), nach energischer Färbung sogar der Einwirkung 5 procentiger Schwefelsäure, entfärbt sich jedoch bei Einwirkung von stärkeren Lösungen und bei Bearbeitung mit 5 procentiger Schwefelsäure und nachfolgender Färbung mit verdünntem Methylenblau und nimmt dann leicht die Gegenfarbe an. Es genügten jedoch diese Eigenschaften nicht, um die Identicität des von mir gezüchteten Stäbchens mit dem Leprabacillus festzustellen. Ich griff deswegen wieder auf das Urmaterial zurück — auf jenes Material, welches in 2 Procent Agar-Agar conservirt worden war. Dieses Material bestand aus zwei Stücken, von denen das eine unmittelbar nach der Biopsie conservirt worden war, während das andere zuerst zur Beschickung der Reagensröhrchen benutzt und dann erst derselben Behandlung wie das erste unterworfen wurde. Dieses letztere Stückchen, welches nach zweiwöchentlichem Aufenthalte in den tieferen Schichten des Agars kein Wachsthum ergeben hatte, benutzte ich nun zuerst. Mit einer starken Platinnadel zog ich dasselbe vorsichtig aus der Tiefe des Conservirungsmittels und bestrich dann mit ihm mehrere Reagensröhrchen mit dem oben beschriebenen Nährboden. Schon am anderen Tage war in allen Fällen der Nährboden von zahlreichen kleinen stecknadelkopfgrossen Colonieen bedeckt, so dass die Oberfläche höckerig, wie chagrinirt aussah. Bei der mikroskopischen Untersuchung liess sich feststellen, dass in allen Röhrchen dasselbe Stäbchen, wie früher, ausgewachsen war. Nach zwei

Wochen wurde der Versuch nochmals angestellt und zwar abermals mit demselben Stückchen, welches also schon zwei Mal benützt war und auch nach dem zweiten Male wieder in 2 Procent Agar-Agar gebettet war. Nachdem auch dies Mal das nämliche Resultat festgestellt worden war, wurde das Stückchen in Paraffin eingebettet und in Schnitten untersucht. Es stellte sich heraus, dass weder in dem Stückchen selbst, noch in der Umgebung desselben sich andere Mikroorganismen als Leprabacillen auffinden liessen; letztere waren stellenweise, besonders an der Peripherie, in Zerfall begriffen. Dasselbe Verfahren schlug ich hinsichtlich des zweiten Stückchens ein, welches ca. 1 Monat in dem erstarrten Medium aufbewahrt und bis dahin noch zu keinem Versuche benutzt worden war. Bei Anstellung derselben Versuche auch mit diesem Stückchen erhielt ich dasselbe Resultat. Nach 2 bis 3 Wochen wurde derselbe Versuch nochmals wiederholt, ebenfalls mit positivem Erfolg, und darauf das Stückchen in Paraffin eingebettet und einer genauen Untersuchung unterzogen. Ein Auswachsen von anderweitigen Mikroorganismen wurde auch hier nicht beobachtet.

Ich hatte es also bei allen meinen Beobachtungen mit ein und demselben Stäbchen zu thun, welches morphologisch dem Leprabacillus sehr ähnlich war, sich jedoch durch den Mangel der specifischen Reaction (Säureresistenz) von demselben unterschied. Der letztere Umstand spricht natürlicher Weise gegen die Identicität der beiden Formen, für ihre biologische Aehnlichkeit sprechen jedoch folgende Erwägungen:

1. Aus ein und demselben Hautknoten und zudem aus den infiltrirten tieferen Schichten desselben wird wiederholt ein und dieselbe Bakterienform gezüchtet unter Verhältnissen, welche jegliche Verunreinigung durch anderweitige Parasiten ausschliessen. Dieser Beweis könnte nur durch die Annahme widerlegt werden, dass in dem Gewebe des Knotens ausser den Leprabacillen noch andere Mikroben enthalten seien, welche denselben ähnlich sind, jedoch deren specifische Reaction entbehren. Diese Annahme fällt aber schon dadurch in sich zusammen, dass weder bei der vorhergehenden, noch bei der nachfolgenden Untersuchung in dem Gewebe des Knotens solche hypothetische Mikroben aufgefunden wurden.

2. Die von mir gezüchteten Bacillen entbehren nicht vollständig der Säureresistenz: bei der Färbung mit Fuchsin nach Ehrlich oder Ziehl widerstehen einzelne Individuen sogar der energischen Entfärbung mit 5 procentiger Schwefelsäure und behalten bei der nachfolgenden Methylenblaufärbung ihre ursprüngliche rothe Farbe. Wird dagegen die Färbung bis zur Dauer von 24 Stunden verlängert, so kann man bei vorsichtiger Entfärbung mit 5 procentiger Schwefelsäure alle Bacillen in rother Färbung erhalten, welche auch bei der Gegenfärbung mit



Methylenblau nicht verschwindet. Am besten gelingt dies bei den jüngsten Culturen — 10 bis 14 Stunden nach der Impfung. In den älteren Culturen nehmen in der Regel schon alle Bacillen die Gegenfärbung an und nur in einzelnen kann man die röthlich gefärbten „metachromatischen Körner" (Babes) wahrnehmen.

3. Der Verlust der Säureresistenz wird bei künstlichen Culturen gar nicht so selten beobachtet, wie dies bisher angenommen wurde. Nach meinen persönlichen Untersuchungen, die ich zusammen mit Hrn. Dr. P. M. Newjadomski anstellte, ist dies in breiterem Maasse auch dem Smegmabacillus eigen. Die letzteren haben überhaupt viel Aehnlichkeit mit den Leprabacillen und sind unzweifelhaft ein und derselben Gruppe zuzutheilen. In Reinculturen haben dieselben eine bemerkenswerthe Aehnlichkeit mit den Diphtheriebacillen, und färben sich nach Ziehl zumeist mit der Gegenfarbe, wobei nur einzelne Individuen oder einzelne in den Bakterienleib eingeschlossene Körner ihre ursprüngliche Farbe behalten. Diese Aenderung in den biologischen Eigenschaften, welche die Smegmabacillen auf künstlichen Nährböden erleiden, ist von uns genau untersucht worden, so dass die Thatsache selbst als feststehend betrachtet werden muss. — Ausser den Smegmabacillen ist diese Erscheinung von mir und meinen Collegen wiederholt in anderen Fällen beobachtet worden. Ich halte es für angebracht, diese Beobachtungen hier in Kürze anzuführen.

Die erste Beobachtung betrifft einen Patienten, welcher an umfangreichen Bronchiectasieen litt und zeitweise grosse Mengen eines fötiden eiterartigen Sputums entleerte. In dem Sputum wurde die Anwesenheit eines eigenartigen Parasiten festgestellt, welcher der Cladothrix asteroides Eppinger sehr ähnlich war (längere und kürzere, sehr dünne, verwickelte und sich ästelnde Fäden) und sich wie diese nach Ziehl und Ehrlich färbten.[1] In Reinculturen dagegen büsste der Parasit erheblich in seiner Säureresistenz ein: bei der Färbung nach Ziehl entfärbte er sich schon bei vorsichtiger Behandlung mit 5 procentiger Schwefelsäure; nur in jüngeren Culturen behielten einzelne Individuen ihre ursprüngliche Färbung, während in den übrigen Stäbchen nur die metachromatischen Körner gefärbt blieben. Auf künstlichen Nährböden wuchsen zuerst kurze, dann längere Stäbchen, welche in ihrer Neigung zu paralleler Lagerung, ihrer Körnigkeit und ihren kolbenartigen Anschwellungen, endlich in der Fähigkeit sich nach Gram zu färben eine grosse Aehnlichkeit mit dem Löffler'schen Diphtheriestäbchen hatten. Im weiteren Verlauf konnten diese Stäbchen zu längeren Fäden auswachsen, aber auch in dieser Form

[1] Das Sputum wurde mir von Hrn. Dr. Newjadomski freundlichst zur Verfügung gestellt, dem ich hiermit meinen Dank ausspreche.



erlangten sie nicht mehr die Eigenschaft der specifischen Reaction. Sogar im Organismus des Meerschweinchens, für welches der Parasit sich als pathogen erwies, und in welchem die ursprüngliche Form sich am besten erhielt, wurde die Reaction vollständig vermisst.

Die zweite Beobachtung betrifft ein 10jähriges Mädchen, welches nach einer Lungenentzündung an linksseitigem Empyem erkrankte, das sich dann durch die Intercostalräume entleerte.[1] Aus den Fisteln entleerte sich flüssiger Eiter, in welchen in grosser Menge diphtherieähnliche Stäbchen aufgefunden wurden. Die Stäbchen lebten in vollständigen Zoogloën, welche einigermaassen an die Drusen des Strahlenpilzes erinnerten. Andere Mikroben wurden nicht vorgefunden. Bei der Färbung nach Ziehl nahm die Mehrzahl der Stäbchen zusammen mit den Kernen der Leukocyten die Gegenfärbung an, ziemlich zahlreiche Individuen dagegen behielten die ursprüngliche Fuchsinfärbung und büssten sie sogar bei Entfärbung mit 5 procentiger Schwefelsäure nicht ein. Das Stäbchen erwies sich als pathogen für Meerschweinchen: bei subcutaner Impfung entstanden umfangreiche Eiterprocesse, welchen die Thiere nach 10 bis 12 Tagen erlagen. Weder in den Organen der Thiere, noch in Reinculturen auf künstlichen Nährböden fand ich jemals ein einziges Individuum, welches seine Säureresistenz behalten hätte: bei Färbung nach Ziehl färbten sich nur die in den Bakterienzellen enthaltenen Körner, während die Zellen selbst in kurzer Zeit entfärbt wurden.

Die dritte diesbezügliche Beobachtung machte Hr. Dr. E. J. Marzinowski. In einem Falle von Lungenerkrankung, wo die Diagnose vorläufig unaufgeklärt blieb, fand derselbe im Sputum in grosser Anzahl dünne Stäbchen, welche sich nach Ziehl färbten und morphologisch den Tuberkelbacillen ähnlich waren; von letzteren unterschieden sie sich übrigens durch einige wesentliche Merkmale, welche bei genauerer Untersuchung deutlich hervortraten (die Stäbchen erschienen stärker gekrümmt, färbten sich schon zu gleichmässig, einige von ihnen waren ziemlich dick, andere nahmen die Gegenfärbung an u. s. w.). In Reinculturen erwiesen sich die Stäbchen als den Diphtheriebacillen sehr ähnlich und entfärbten sich nach Ziehl — gefärbt blieben nur die in ihnen enthaltenen Körner. Den beschriebenen sehr ähnliche Bakterien fand Marzinowski einige Mal in den Krypten der Tonsillen. In Reinculturen büssten auch diese Bacillen wesentlich in ihrer Säureresistenz ein.

[1] Pat. befand sich im Moskauer Sophien-Kinderhospital. Dem Oberarzt der Anstalt, Hrn. Dr. N. W. Jakowleff, und dem Prosector, Hrn. Dr. W. J. Schamschin, sage ich meinen Dank für die freundliche Ueberlassung des Falles.

In allen diesen Beobachtungen haben die gezüchteten Bakterien Folgendes gemeinsam: 1. in Reinculturen können sie verschiedene von ihren hauptsächlichen biologischen Eigenschaften einbüssen; 2. alle müssen sie nach ihrer Aehnlichkett mit den Diphtheriebacillen derselben Gruppe — den Diphtherideen (Babes) — zugezählt werden. Nach ihrer Färbung stehen sie auf der Grenze zwischen den Tuberkelbacillen einerseits und zwischen den übrigen Bakterien, die sich unter der Einwirkung von Säuren leicht entfärben, andererseits. Nach den neuesten Untersuchungen scheinen zu derselben Gruppe auch die Smegma- und Leprabacillen zu gehören.

Alle diese Beobachtungen möchte ich noch durch einen Versuch ergänzen, welchen ich zu dem Zwecke unternahm, die Möglichkeit einer Rückkehr der Bakterien zu dem früheren, durch längere Züchtung auf künstlichen Nährböden verloren gegangenen Zustande festzustellen. In der letzten Zeit ist bekannt geworden, dass die Cladothrix asteroides Eppinger zu den säureresistenten Bakterien gehört und sich nach Ziehl färbt. Diesen an und für sich richtigen Satz möchte ich nun dahin ergänzen, dass jüngere Culturen thatsächlich ziemlich säureresistent sind, dass sich dasselbe aber nicht ohne einige Einschränkung von älteren Culturen (7 Tage und älter) sagen lässt.[1] Nach meinen persönlichen Beobachtungen ist auch in den jüngeren Culturen (1tägigen) stets eine grosse Anzahl von Fäden und kurzen Stäbchen anzutreffen, welche sogar bei vorsichtiger Entfärbung ihre ursprüngliche Färbung verlieren und dann leicht die Gegenfärbung annehmen (die Anzahl solcher Individuen beträgt beiläufig die Hälfte der gesammten Bakterienmenge); in den älteren Culturen büssen dagegen beinahe alle Bakterien ihre frühere Säureresistenz ein; nur vereinzelte Individuen behalten dieselbe und vertragen eine vorsichtige Säurebehandlung. Eine solche ältere Cultur verbrachte ich in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens und untersuchte die Organe nach 12 bis 14 Tagen; es stellte sich heraus, dass die Fäden des Parasiten die Eigenschaft der Säureresistenz wieder erhielten und bei der Färbung nach Ziehl die ursprüngliche Färbung hartnäckig behielten. Diesen Versuch führe ich als Beweis an, dass zuweilen scheinbar der Einfluss der Säfte und Gewebe des lebenden Organismus von Nöthen ist, um den Bakterien ihre früheren, durch Cultur auf künstlichen Nährböden verloren gegangenen Eigenschaften zurückzugeben.

Ich habe hier eine Reihe von Beobachtungen angeführt, welche auf die Möglichkeit hinweisen, dass Aenderungen in den biologischen Eigenschaften der Bakterien in Abhängigkeit von Aenderungen in den Lebens-

[1] Die Beobachtungen stellte ich mit meinem Nährboden an, auf welchem Cladothrix Eppinger auffallend schnell und üppig wuchert.



bedingungen eintreten können. Ein directer Beweis, dass solche Veränderungen auch bei dem Erreger der Lepra beobachtet werden, ist damit noch nicht erbracht. Es war deshalb verständlich, dass, wenn ich meiner Beobachtung Werth verleihen und die von mir gewonnenen Resultate auch nur einigermaassen verallgemeinern wollte, ich wiederholte Untersuchungen anstellen musste. Da ich kein passendes Material zur Verfügung hatte, so beschloss ich mich an Herrn Prof. O. W. Petersen und zwar an die von ihm bei St. Petersburg gegründete Leproserie zu wenden. Ich wurde im höchsten Grade freundlich aufgenommen und Herr Prof. Petersen begleitete mich sogar persönlich auf der Fahrt nach der Leproserie, wo er mir einige nicht ulcerierte Hautknoten, die von 4 Kranken durch Biopsie gewonnen wurden, zur Verfügung stellte. — Meine Versuche, dieses Material zu Culturen zu benützen, waren jedoch von vollständigem Misserfolg begleitet: alle geimpften Nährböden blieben durch lange Zeit steril. Die Ursache dieses Misserfolges sehe ich ausschliesslich darin, dass bei der Rückreise das Material einer zu niedrigen Temperatur ausgesetzt war (— 27° R.), welche schädlich auf die Leprabacillen einwirkte, ihre Lebensfähigkeit herabsetzte, und das gerade zu einer Zeit, wo ihre Lebensbedingungen ohnehin ungünstig beeinflusst waren (durch die Ueberimpfung aus dem Organismus auf den Laboratoriumsnährboden). — Diese Erklärung scheint mir die einzig zulässige zu sein, da ich in den beiden folgenden Leprafällen, welche in der Moskauer Klinik für Hautkrankheiten zur Beobachtung gelangten, ein positives Resultat erzielen konnte. Bei dem einen von diesen beiden Fällen werde ich mich nicht lange aufhalten, da die daraus erzielten Culturen sich durch nichts von den aus dem ersten Falle gezüchteten unterschieden; nur in einer Cultur fand ich eine ausgesprochene Neigung zu Verästelung vor, es wird aber davon noch weiter die Rede sein. Auf den zweiten Fall dagegen muss ich näher eingehen.

Dieser Fall bot auch einige Besonderheiten in klinischer Hinsicht dar. Die Erkrankung (bei einem 12jährigen Knaben) präsentirte sich in der ziemlich seltenen Form der Folliculitis (Folliculitis et Perifolliculitis leprosa). Die Talgdrüsen und das umgebende Gewebe war infiltrirt und in Zerfall begriffen; in der Dicke der Cutis bildeten sich „Tuberkeln" von ziemlich verschiedener Grösse, welche sich durch ihre Färbung von der übrigen Haut in nichts unterschieden, theils derbere, theils mit flüssigem oder halbflüssigem Inhalte. Beim Einstich trat der Inhalt der Follikel leicht heraus; aus den derberen, noch nicht zerfallenen Follikeln liess sich der Inhalt in Gestalt von nekrotischem Gewebe herausdrücken, einigermaassen dem Pfropfen eines Furunkels ähnlich. In den daraus bereiteten Ausstrichpräparaten liessen sich in colossaler Anzahl Leprabacillen feststellen, welche dicht in den Zellen eingeschlossen lagen. Zu meinem



ersten Versuche benutzte ich einen derben Knoten, welcher vom Assistenten der Klinik, Hrn. Dr. S. Th. Kracht, unter den sorgfältigsten Cautelen zur Verhütung einer Verunreinigung ausgeschnitten wurde. Der Knoten wurde in mehrere Stückchen zertheilt, welche vorsichtig von den oberen Schichten mitsammt der Epidermis befreit wurden. Mit diesen Stückchen wurde nun eine grössere Anzahl von Reagensröhrchen mit dem bewussten Nährboden geimpft, jedoch in keinem derselben Wachsthum erhalten. Nach einer Woche wurde der Versuch wiederholt. Diesmal benutzte ich einen von den zerfallenden Follikeln, mit dessen Inhalt ich eine beträchtliche Anzahl von Röhrchen beschickte. Nach 4 Tagen war in einem von ihnen ein Bacillus gewachsen, dessen Eigenschaften weiterhin besprochen werden sollen. In Hinsicht auf dies unbestimmte Resultat wurde der Versuch nochmals mit dem Inhalte eines anderen zerfallenden Follikels wiederholt. Diesmal wurden die Röhrchen in die feuchte Kammer verbracht; die Culturen wurden sowohl aërob, wie auch anaërob angelegt, im letzteren Falle nach Buchner für starren und nach Fränkel für flüssigen Nährboden. Aus 12 Röhrchen ergaben blos 2 (aërob) vereinzelte Colonieen desselben Bacillus, welcher im vorhergehenden Versuche erhalten wurde; die übrigen Röhrchen blieben steril. Ungefähr nach einem Monate wurde der Versuch wiederum angestellt und zwar diesmal mit Stückchen, welche nach der oben beschriebenen Methode in einem indifferenten (für Leprabacillen) Nährboden conservirt worden waren. Dieses Mal war der Erfolg ein vollständiger: in allen 5 geimpften Röhrchen war nach 2 Tagen ein reichliches Wachsthum von Colonieen wahrzunehmen, deren Charakter weiter unten genauer beschrieben werden soll. Die auf diese Weise erzielten Bacterien unterschieden sich von denen der ersten beiden Leprafälle durch einige Besonderheiten, welche am besten bei genauerer Bekanntschaft mit den morphologischen und biologischen Eigenschaften dieser beiden mit einander unzweifelhaft verwandten Formen sichtbar wird.

Die aus den beiden ersten Leprafällen (Fall I und II) gezüchteten Bacterien zeichneten sich gleich von Anfang an durch üppiges und reichliches Wachsthum auf den Nährböden aus. In den mit Blut beschickten Röhrchen (Fall I) war Wachsthum schon am zweiten bis dritten Tage vorhanden; die Mehrzahl der mit dem Hautknoten geimpften Röhrchen wiesen am dritten bis vierten Tage Wachsthum auf. Annähernd dasselbe Resultat wurde im Falle II erhalten, in welchem die Impfung mit dem Blute nicht vorgenommen werden konnte: reichliches Wachsthum trat schon am dritten Tage nach der Impfung mit den Hautknoten auf. Die in Agar-Agar aufbewahrten Stückchen, von welchen von Zeit zu Zeit auf Nährboden übergeimpft wurde, ergaben reichliches Wachsthum schon am



zweiten Tage. Letzterer Umstand kann natürlich durch allmähliche Anpassung an die saprophytische Lebensweise erklärt werden. In den ersten Generationen wuchsen die Bacillen nur auf dem Nährboden, welchen ich aus Placentargewebe herstellte; auf den gewöhnlichen Nährböden (Glycerin- oder einfacher Agar-Agar, Bouillon und Gelatine) war entweder gar kein Wachsthum wahrzunehmen oder ein sehr spärliches. Bei weiteren Ueberimpfungen gediehen auch auf diesen Nährböden die Bacillen gut. Auf Agar-Agar war Wachsthum schon am anderen Tage in Form eines reichlichen, feuchten, leicht schleimigen Belages wahrnehmbar, welcher sich mühelos vom Nährboden abheben liess. Beim Zerreiben in einem Tropfen Wasser oder Bouillon auf dem Objectträger zerbröckelte die Masse leicht, liess sich jedoch weiterhin nur mit Mühe auf dem Glase ausstreichen. Auf Glycerin-Agarplatten hatten die Colonieen ein ungleiches Aussehen, je nachdem sie sich an der Oberfläche oder in der Tiefe entwickelt hatten. — Im ersteren Falle besassen die Colonieen einen leicht gezähnten Rand und erschienen bei schwacher Vergrösserung stark gekörnt, mit dunklerem Centrum und hellerer Peripherie. Bei stärkerer Vergrösserung (Zeiss, Objectiv DD, Ocular Nr. 3) erinnerten sie in ihrer Structur an die Colonieen von Bordoni-Uffreduzzi (und Czaplewsky) und ich konnte bloss in meinen Fällen jenes zart-faserige Netz nicht bemerken, welches jener Autor erwähnt: meine Bacillen lagen dicht nebeneinander, ohne eine netzförmige Anordnung zu zeigen. — In den tieferen Schichten des Nährbodens hatten die Colonieen das Aussehen bräunlicher linsenförmiger Gebilde, welche wenig Charakteristisches aufzuweisen hatten. In Bouillon bei 36° bis 37° zeigte sich am zweiten bis dritten Tage eine leichte Trübung und an der Oberfläche ein dünnes zartes Häutchen. In den nächsten 1 bis 2 Tagen vermehrte sich die Trübung und das Häutchen wurde etwas derber. Zur gleichen Zeit zeigten sich in dem Nährboden einzelne suspendirte Schüppchen und Klümpchen, welche sich allmählich auf den Boden niederliessen. Darauf wurde die Bouillon bald klar; am Boden bildete sich ein Satz, welcher im Anfang locker war, sich leicht aufwirbeln liess und in kleine Stückchen zerbröckelte, während er späterhin derber und schleimiger wurde. — In Gelatine war das Wachsthum für gewöhnlich ein sehr langsames. Die Bacillen vermehrten sich hauptsächlich in dem oberen Theile des Einstiches, besonders an der Oberfläche in der Umgebung der Einstichöffnung; Verflüssigung trat nicht ein. Sehr günstig war das Wachsthum auf gesottenem Hühnereigelb. Die Oberfläche bedeckte sich mit einem dunkelbraunen, leicht erhabenen Belag. Auf erstarrtem Blutserum hatten die Colonieen das Aussehen eines gelblichweissen wenig charakteristischen Belages. Das Serum wurde nicht verflüssigt und das Condenswasser trübte sich nicht.



Hinsichtlich ihrer äusseren Kennzeichen boten die Bakterien eine beträchtliche Mannigfaltigkeit in der Form dar — je nach der Zusammensetzung des Nährbodens, dem Alter der Culturen und sogar der Färbungsmethode. Auf gesottenem Eigelb und Blutserum hatten die Bakterien das Aussehen sehr kurzer Stäbchen, bei welchen die Länge nur um weniges die Breite überragte, oder ihr sogar gleich war; im letzteren Falle gewann man den Eindruck von Kokken oder häufiger — von Diplokokken. Bekanntlich werden ähnliche Formen auch in leprösen Geweben vorgefunden, nur erschienen dieselben viel kleiner, als in künstlichen Culturen. Auf Agar-Agar und dem von mir vorgeschlagenen Nährboden wurden dünnere und längere Stäbchen erhalten. Die auf diesen beiden Nährböden gewachsenen Bakterien ähnelten am meisten den im lebenden Organismus aufgefundenen Leprabacillen: wie in den Leprazellen ordneten sie sich in den Colonieen häufig reihenweise an und zeigten diese Anordnung auch auf vorsichtig hergestellten Ausstrichpräparaten. Sehr häufig erschien das eine Ende eines Sätbchens leicht verdickt, während sich das andere Ende verjüngte. In älteren Culturen (vom vierten bis fünften Tage) erschienen einzelne Individuen verlängert und leicht gekrümmt, ähnlich den Vibrionen und sogar den Spirillen. Im Laufe der Zeit änderten bei den späteren Ueberimpfungen die Bacillen sichtbar ihre Form: schon in jüngeren Culturen schienen einzelne Individuen stark vacuolisirt, in den älteren dagegen waren lange unregelmässig gekrümmte Fäden anzutreffen, welche sich stärker als die übrigen Formen mit verdünnter Fuchsinlösung färbten und bei der Behandlung nach Ziehl hartnäckiger ihre ursprüngliche Färbung behielten. Häufig erschienen diese Fäden wie aus einer Reihe grösserer Körner zusammengesetzt, welche in eine gemeinsame Hülle eingeschlossen waren. Die Körner waren ziemlich regelmässig hintereinander angeordnet und durch Vacuolen getrennt (s. Fig. 1, Taf. II). Bei der Färbung nach Ziehl färbten sie sich entweder roth, oder blau, oder gemischt (röthlich-blau). — In Bouillon wuchsen die Bacillen gleich von Anfang an in Form langer sich plump bewegender Fäden.

Die Bakterien sind unzweifelhaft beweglich; besonders schnell bewegen sich die kurzen jungen Individuen, welche Culturen auf Agar-Agar und Blutserum entnommen sind.

Einigermaassen abweichende Eigenschaften besassen die aus dem Falle III gezüchteten Bakterien. Zu allererst bestand ein Unterschied in ihrem Verhalten zu den verschiedenen Nährböden. Oben wurde schon erwähnt, mit welchen Schwierigkeiten die Gewinnung einer Reincultur verknüpft war: aus einer grossen Anzahl geimpfter Röhrchen kam gewöhnlich in 1 bis 2 eine Colonie zum Wachsthum, während die übrigen steril blieben. Bei den folgenden Ueberimpfungen wuchsen die Bakterien schon



besser, aber immerhin konnte auch hier das Wachsthum noch nicht reichlich genannt werden: die Colonieen blieben beständig sehr klein, vollständig farblos und beinahe durchsichtig, und erinnerten in dieser Hinsicht einigermaassen an die Culturen des Pfeiffer'schen Influenzabacillus auf demselben Nährboden. Erst im Laufe der Zeit, nach 5 bis 6 Generationen, erreichten die Culturen eine grössere Intensität und zeigten dann die grösste Aehnlichkeit mit den aus den beiden ersten Fällen gezüchteten Bacillen. Dieselbe Aehnlichkeit bestand auch in der Structur der auf Glycerin-Agarplatten gewachsenen Culturen. — Zu den gewöhnlichen Nährböden verhielten sich die Bakterien in der ersten Zeit völlig negativ, d. h. ergaben keinerlei Wachsthum. In dieser Hinsicht erschienen sie viel empfindlicher als die Bakterien Nr. I und II. Wachsthum wurde jedoch möglich, als die Bakterien sich in genügendem Maasse der saprophytischen Lebensweise angepasst hatten. Im Allgemeinen hat das Wachsthumsbild viel Aehnlichkeit mit demjenigen der Bakterien Nr. I und II, mit dem Unterschiede, dass 1. bis jetzt (d. h. etwa $1^1/_2$ Monate nach der ersten Züchtung) die Bildung eines oberflächlichen Häutchens nicht beobachtet wurde, und 2. Impfung auf Gelatine stets ein negatives Resultat ergab. In jüngeren Culturen hatten die Bakterien das Aussehen kurzer Stäbchen; bald wurden sie länger, erhielten ausgeprägte Körnung und kolbenförmige Endanschwellungen. Die Körnung war stärker ausgeprägt, wie in den beiden früheren Fällen; die Körner selbst waren grösser und zeichneten sich durch grössere Säureresistenz aus. In diesem Entwickelungsstadium erschienen die Bakterien bei der gewöhnlichen Färbung mit Anilinfarben ziemlich massiv und erinnerten in ihrer Form weniger an die Diphtherieerreger, als an einige Vertreter der zahlreichen Gruppe der Strahlenpilze, und zwar an diejenigen, welche in Reinculturen keine sich verzweigende Fädenbildung zeigen, sondern in Form langer gekörnter Stäbchen wachsen, welche an den Enden gewöhnlich mit massiven kolbenförmigen Anschwellungen versehen sind.

Interessant war das Verhalten unserer Bakterien zu der Färbung nach Ziehl und Ehrlich: die jüngeren Culturen zeichneten sich durch eine sehr erhebliche Säureresistenz aus und behielten ihre ursprüngliche Farbe sogar bei energischer Entfärbung mittels 5- und 10 procentiger Schwefelsäure; in älteren Culturen entfärbten die Bacillen sich schnell, und gefärbt blieben bloss die in ihnen enthaltenen Körner (s. Fig. 2, Taf. II). Zuerst waren solche Körner beinahe in jeder Zelle sichtbar; mit zunehmendem Alter der Culturen waren sie seltener anzutreffen — offenbar büssten sie ihre Säureresistenz ein. In alten Culturen, wo in den Präparaten nur körniger Zerfall sichtbar war, waren solche Körner nur in verhältnissmässig geringer Anzahl anzutreffen, und es hatten dieselben



eine ungleiche Grösse; bei der Färbung nach Ziehl färbten sie sich jedoch roth — noch ausgeprägter als die Körner in den jüngeren Culturen. Einzelne von ihnen hatten in ihrer Farbe und ihrer Grösse grosse Aehnlichkeit mit den gewöhnlichen Bakteriensporen.

Völlig unerwartete Resultate erhielt ich bei meinem vierten Versuch, welcher denselben dritten Leprafall betraf: zur Züchtung der Leprabacillen benützte ich, wie oben erwähnt, ein Gewebsstückchen, das ungefähr einen Monat in 2 procent. Agar-Agar aufbewahrt worden war. In allen geimpften Röhrchen waren am dritten Tage kleine Colonieen gewachsen, welche dem Aeusseren nach denjenigen Colonieen sehr ähnlich sahen, die in den früheren Versuchen gewonnen waren, jedoch den Unterschied zeigten, dass sie der Oberfläche des Nährbodens fest anhafteten. Nach 3—4 Tagen erreichten die Colonieen Stecknadelkopfgrösse und hatten das Aussehen compakter gräulich-weisser Knoten, welche dem Nährboden fest anhafteten. Das ganze Bild war den Culturen des Strahlenpilzes ausserordentlich ähnlich. Die mikroskopische Untersuchung stellte fest: 1. die Anwesenheit von dünnen Stäbchen, welche nach Form und Grösse sich in Nichts von den Leprabacillen unterschieden, 2. eine beträchtliche Anzahl langer dünner Fäden, welche ausgeprägte Fähigkeit zu echter Verästelung zeigten und in dieser Hinsicht der zahlreichen Gruppe der Strahlenpilze sehr nahe standen. Nach Ziehl färbten sich die Stäbchen theils roth, theils blau; es kamen aber auch Uebergangsformen vor, welche eine gemischte röthlich-blaue Färbung annahmen. Die Fäden färbten sich grösstentheils blau; in einigen Präparaten dagegen waren Fäden vorhanden, und zwar nicht selten in grösserer Anzahl, welche sich gemischt färbten. Es kamen auch Fäden vor, deren eine Hälfte sich blau, deren andere Hälfte sich röthlich-blau färbte. Am freien Ende bildeten solche Uebergangsformen häufig kolbenförmige Anschwellungen, an welchen die röthliche Färbung noch stärker hervortrat (s. Fig. 3, Taf. II). Ebenso färbten sich in den gegliederten Fäden, welche aus längeren oder kürzeren Stäbchen zusammengesetzt waren, einige der Glieder blau, andere gemischt. In einigen Präparaten waren zwischen diesen Gebilden auch gekörnte Stäbchen anzutreffen, denjenigen sehr ähnlich, welche in den früheren Versuchen (aus demselben Falle) erhalten waren, mit dem Unterschiede, dass sich dieselben durch geringere Säureresistenz auszeichneten.

Solche Bilder konnte ich bis jetzt nur bei der ersten Generation der Culturen beobachten, und die Stäbchen, welche sich nach Ziehl färbten, sind als solche Individuen aufzufassen, welche zusammen mit dem Impfmaterial auf den Nährboden übertragen wurden und hier unverändert blieben. Bei den folgenden Ueberimpfungen waren bloss lange sich ver-



ästelnde Fäden und kürzere Stäbchen anzutreffen, welche sich unter der Einwirkung von Säuren schnell entfärbten.

Etwa nach einer Woche wurde der Versuch mit demselben Stückchen, das so unerwartete Resultate ergeben hatte, wiederholt, desgleichen mit einem Stückchen, welches über einen Monat steril in einem indifferenten Nährboden aufbewahrt und noch nicht zur Cultur benützt worden war. Das Resultat war in beiden Fällen ein dem vorhergehenden gleiches.

Die Beobachtungen hinsichtlich dieser Culturen sind noch nicht abgeschlossen, aber immerhin habe ich aus dem bis jetzt Erhaltenen den feststehenden Eindruck gehabt, dass jene aktinomycesartige Formen, mit welchen ich in meinen letzten Untersuchungen zu thun hatte, ein weiteres Entwickelungsstadium der von mir gezüchteten und als Erreger der Lepra aufgefassten Bacillen bilden. Schon früher, bei der Untersuchung der Culturen aus dem zweiten Leprafalle, hatte ich es ein Mal mit einem ähnlichen Bilde zu thun: eines von den Stückchen, das längere Zeit (etwa $1^1/_2$ Monate) in 2 procent. Agar-Agar aufbewahrt worden war, ergab bei der Impfung eine Cultur, welche im Anfange aus Stäbchen bestand und sich in Nichts von den vorhergehenden unterschied; bald stellte sich jedoch ein Unterschied ein, indem die Stäbchen zu langen sich verästelnden Fäden auswuchsen. Diesem Befunde legte ich damals keinen grossen Werth bei und war eher geneigt, einen Fehler in der Untersuchung anzunehmen, als irgend welche weitere Vermuthungsschlüsse daraus zu ziehen. Jetzt bin ich auf Grund meiner Untersuchungen zu einer anderen Ansicht gelangt und behauptete mit Barannikoff[1], dass die Leprabacillen ausserhalb des Organismus einen complicirten Entwickelungscyclus durchmachen und dass die sich verästelnden Formen eines der Stadien bilden.

Diese Ansicht enthält nichts Ueberraschendes, da doch schon zahlreiche Beispiele bekannt sind, wo Bacillen in Abhängigkeit von den Lebensbedingungen ihre Eigenschaften stark ändern. Einerseits wissen wir, dass Bakterien, welche im lebenden Organismus beinahe ausschliesslich Bacillenform haben, auf künstlichen Nährböden eine sich verästelnde Abart bilden können; derartige Beobachtungen sind bekanntlich an dem Erreger der Tuberculose, der Diphtherie, des Rotzes und unter anderem auch der Bubonenpest gemacht worden. Andererseits sind Beispiele bekannt, wo Bakterien, welche im Organismus in Form vollständiger Zoogloëen aus verästelten Fäden leben, in künstlichen Reinculturen ganz eigenartige bacilläre Formen geben können. Hierher gehören viele Vertreter der Gruppe der Strahlenpilze, welche in der letzten Zeit grössere Aufmerksamkeit von Seiten der Bakteriologen auf sich zogen. — Zweifellos werden

[1] *Wratsch.* 1900. Nr. 18.



weitere Forschungen eine noch engere Verbindung zwischen der Gruppe der bacillären und derjenigen der verästelten Bakterien feststellen, und möglicher Weise werden dann unsere Kenntnisse von der Morphologie und überhaupt der Systematik der Mikroben eine wesentliche Aenderung erfahren. — Was speciell den Lepraerreger anbelangt, so wurden ausser von Barannikoff, welcher in seinen aus Lepraknoten erhaltenen Culturen lange, sich cladothrixähnlich verzweigende Fäden sah, annähernd ebensolche Beobachtungen von Levy und besonders von Babes gemacht, welch' letzterer Verzweigung der Lepraerreger sowohl im Gewebe der Knoten, als auch in künstlichen Culturen sah.

Unter Zusammenstellung meiner eigenen Beobachtungen mit denjenigen der übrigen Forscher sei es mir erlaubt, folgende Schlüsse zu ziehen:

1. Die Lepraerreger sind ausserhalb des Organismus ziemlich beträchtlichen Aenderungen in ihren Eigenschaften unterworfen.

2. Nach ihren morphologischen Kennzeichen sind sie von Babes der Gruppe der „Diphtherideen" zugetheilt, richtiger wäre es jedoch auf Grund genauerer Kenntniss ihrer Entwickelungsgeschichte (Barannikoff und theilweise Verfasser) sie der Gruppe der sich verästelnden Bakterien zuzutheilen, welche bis jetzt unter den verschiedenen Namen — Streptothrix, Cladothrix, Aktinomyces u. s. w. bekannt ist; übrigens wäre es möglich, dass zwischen der Gruppe der „Diphtherideen" (Babes) und der Gruppe der „Streptothrix" kein wesentlicher Unterschied besteht, und dass durch weitere Untersuchungen beide Gruppen derselben Art zugetheilt werden.

3. In künstlichen Culturen scheinen die Lepraerreger ihre Säureresistenz nur in Ausnahmefällen zu behalten (die Culturen von Bordoni-Uffreduzzi und Gianturco); in der grossen Mehrzahl erscheint die Säureresistenz entweder herabgesetzt (Czaplewsky, Spronk, meine beiden ersten Beobachtungen) oder nur in einem bestimmten Entwickelungsstadium erhalten (Barannikoff, meine dritte Beobachtung) oder sie hat endlich einen partiellen Charakter (metachromatische Körner von Babes).

4. Die Cultur der Bakterien gelingt in einigen Fällen verhältnissmässig leicht, in anderen dagegen sehr schwer, oder aber gar nicht (Babes).



[Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Halle a/S.]
(Director: Prof. C. Fraenkel.)

Ueber desinficirende Wandanstriche.

Von

Stabsarzt Dr. **Jacobitz**,
commandirt zum Institut.

In Krankenhäusern, Operationssälen, Laboratorien, Schulen, Kasernen, Fabrik- und Versammlungsräumen, ferner in Stallungen und theilweise auch in unseren Wohnungen, überhaupt überall da, wo gelegentlich eine gründliche Säuberung der Wände entweder durch Abwaschen mit den gebräuchlichen desinficirenden Flüssigkeiten oder auch durch Verwendung einiger derselben in Dampfform nothwendig wird, muss ein Anstrich vorhanden sein, der an der Wand selbst durchaus festhaftet, ferner in sich möglichst festgefügt, glatt, abwaschbar und im Stande ist, die eben angeführten Maassnahmen zu überstehen, ohne diese seine nothwendigen Eigenschaften zum Theil einzubüssen oder gar ganz zu verlieren. Wie in den letzten Jahren angestellte Untersuchungen von Deycke[1], Heimes[2] und Bosco[3] gezeigt haben, kommt einigen der für derartige Anstriche geeigneten Farben ausserdem noch eine gewisse desinficirende Wirkung zu, so dass man also in Fällen, in denen man es für nothwendig hält, in

---

[1] Deycke, Ueber die Absterbebedingungen pathogener Keime auf gewissen Anstrichfarben. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIII. Abth. I. S. 1033 u. 1081.

[2] Heimes, Ueber das Verhalten der Anstrichfarben zu den pathogenen Bakterien. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 11. Sitzungsbericht des medicin. Vereins in Greifswald.

[3] L. Bosco, Le pareti delle case come mezzo di conservazione e propagazione dei batteri patogeni. *Lavori di laboratorio dell' Istituto d'igiene de Palermo.* 1898. IV. p. 207.



der Lage ist, einen sowohl in technischer, als auch in hygienischer Beziehung vollkommenen Anstrich herzustellen, der an und für sich schon eine Abtödtung etwa auf ihn gelangender Krankheitskeime herbeizuführen vermag.

Deyckes[1] Untersuchungen erstreckten sich auf die Amphibolinfarbe der Hamburger Amphibolinfarbwerke C. Gluth, ferner auf Oel-, Kalk- und Leimfarbe, mit denen Holz- oder Cementplättchen bestrichen wurden. Diese wurden dann mit folgenden Bakterien: Staphylococcus pyogenes flavus, Streptococcus erysipelatis, Bacillus diphtheriae, Bacillus typhi, Bacterium coli commune und Bacillus tuberculosis inficirt und nachher von ihnen von Zeit zu Zeit Proben zur bakteriologischen Untersuchung entnommen. Diese selbst nahm Deycke im Allgemeinen in der Weise vor, dass er die von den einzelnen Platten mit einem sterilen Messer abgekratzten kleinen Mengen des inficirten Anstriches auf in Reagenzröhrchen schräg erstarrten Agar brachte und diese Culturen alsdann zur weiteren Beobachtung im Brütschrank aufbewahrte. Mit dem Choleravibrio und dem Rotzbacillus angestellte gleichartige Versuche führten zu keinem brauchbaren Ergebniss, da beide auf sämmtlichen Anstrichen schon innerhalb einer Stunde der Austrocknung erlagen.

Deycke hat nun gefunden, dass die Dauer der Lebensfähigkeit der verschiedenen Mikroorganismen auf den oben genannten Anstrichfarben erhebliche Unterschiede zeigt und hat diese folgendermaassen in Zahlen ausgedrückt: Amphibolinfarben-, Oelfarben-, Kalkfarben- und Leimfarbenanstrich verhalten sich wie $1 : 1^1/_2 : 3 : 5$, d. h. pathogene Keime bleiben auf Oelfarben $1^1/_2$ Mal, auf Kalkfarben 3 Mal, auf Leimfarben 5 Mal so lange lebens- und entwickelungsfähig als auf den Amphibolinfarben. Der Grund für diese von Deycke bei den genannten Farben gefundenen so erheblichen Abweichungen liegt seiner Meinung nach in erster Linie in der physikalischen Beschaffenheit der verschiedenen Anstriche, während die chemischen Eigenschaften derselben hierbei nur in untergeordnetem Maasse in Betracht kommen sollen. Deycke wurde zu diesem Schlusse geführt durch die Beobachtung, dass, obgleich eine der von ihm geprüften Amphibolinfarben einen organischen Bindestoff, also ein den Bakterien zusagendes Nährmedium enthielt — allerdings nur in relativ geringer Menge und in chemisch reiner Form —, während die andere gänzlich frei von organischen Substanzen war, dennoch beide in ihrer Wirkung den Bakterien gegenüber sich vollständig gleich zeigten. Seine Ansicht wurde weiter dadurch bestärkt, dass er durch einen künstlichen

[1] A. a. O.



Zusatz von desinficirenden Substanzen nicht etwa eine Erhöhung der keimtödtenden Kraft, sondern vielmehr eine erhebliche Abschwächung und Verschlechterung derselben bei den einzelnen Farben entstehen sah, indem durch derartige Beimischungen das feste Gefüge des Anstrichs gelockert und so aus der vorher fest anhaftenden jetzt eine leicht bröckelnde Masse wurde. Darum sind nach Deycke die Eigenschaften, auf die man bei der Herstellung von Anstrichfarben Werth legen muss, vor Allem die folgenden: Dieselben müssen fest an ihrer Unterlage zu haften vermögen, ihre Theilchen müssen sich zu einem festen Gefüge zusammenschliessen, sie dürfen nicht zur Verstäubung und Verwitterung neigen und müssen endlich eine schnelle und gründliche Austrocknung und so eine Abtödtung etwa auf sie gelangender pathogener Keime ermöglichen. Dieses Ziel kann einmal, so führt Deycke aus, dadurch erreicht werden, dass ein derartiger Anstrich Flüssigkeit überhaupt nicht in sich aufnimmt, dieselbe vielmehr an der Oberfläche verdampfen lässt, und zweitens dadurch, dass die aufgetragene Farbe eine möglichst grosse capillare Aufsaugungsfähigkeit besitzt, dabei aber der auf ihn gelangenden keimhaltigen Flüssigkeit (Auswurf, Eiter u. s. w.) nur gestattet, in seine präformirten, natürlichen Poren einzudringen.

In ähnlicher Weise wie Deycke hat Heimes[1] seine Untersuchungen, die sich auf Zoncafarbe der Firma Zonca u. Co. Kitzingen a. M., ferner auch Oel-, Leim-, Kalk- und Emaillefarbe erstreckten, angestellt. Er bestrich mit diesen Farben Eichen-, Pappel-, Tannenholz-, ferner Eisen- und Cementplatten und inficirte dieselben dann mit Bouillonculturen von Staphylococcus aureus, Streptococcus erysipelatis, Diphtherie-, Typhusbacillus und Choleravibrio. Nach gewissen Zeitabschnitten stellte er so mit Hülfe von Bouillon- und Agar- oder Serumculturen die Wachsthumsfähigkeit oder auch die Abtödtung der aufgetragenen Bakterien fest.

Als Ergebniss seiner Untersuchungen fand er, dass auf den Oelfarbenanstrichen und unter diesen wieder am schnellsten auf dem Zoncafarbenanstrich alle Bakterien rascher absterben als auf den mit anderen Farbstoffen bestrichenen Platten und drückte diesen Befund in folgenden Verhältnisszahlen aus: $1:2^1/_2:5:10$, d. h. wenn man die Zeitdauer der Lebensfähigkeit auf Oel- oder Zoncafarbenanstrich = 1 setzt, so beträgt dieselbe auf Emaillefarben- und Amphibolinanstrichen mehr als doppelt so lange, auf Kalkfarben- 5 Mal und auf Leimfarbenanstrichen 10 Mal solange. Er nimmt als Ursache dieser Differenzen in der Wirkung der einzelnen Anstriche auf pathogene Bakterien einmal die verschiedene

[1] A. a. O.



chemische Beschaffenheit der Farben an und äussert sich dahin, dass die Ueberlegenheit der Oel- und Zoncafarbe vielleicht auf der baktericiden Eigenschaft gewisser Bestandtheile derselben, wie z. B. der Terpene oder auch vielleicht auf der durch Oxydation entstehender Körper, wie z. B. des Ozons, Wasserstoffsuperoxyds beruhe, fügt aber hinzu, dass seiue Untersuchungen über diesen Punkt noch nicht zum Abschlusse gelangt seien. Als weiteren hier in Betracht kommenden Grund sieht Heimes dann auch die von Deycke als Hauptursache der baktericiden Wirkung einiger Anstrichfarben hingestellten physikalischen Verhältnisse der mit denselben hergestellten Anstriche an, nämlich das mehr oder weniger feste Gefüge derselben, ihre grössere oder geringere Porosität und die Beschaffenheit ihrer Oberfläche, die diese für Flüssigkeiten in höherem oder minderem Grade empfänglich macht.

Bosco[1] hat seine Untersuchungen in erheblich anderer Art als die beiden eben Genannten, die im Wesentlichen in gleicher Weise vorgingen, ausgeführt. Er benutzte als Unterlage für die verschiedenen Farbenanstriche die aus Kalktuffsteinen hergestellten Wände eines Zimmers des hygienischen Institutes in Palermo. Die gesammte Wandfläche des Zimmers wurde in 6 gleiche Theile zerlegt, von 5 dieser Abschnitte wurde der Kalkmörtel, mit dem die Wände des Raumes ursprünglich bekleidet waren, sorgfältig abgekratzt und dafür die in Italien in Bürger- und Arbeiterhäusern üblichen Wandbekleidungsarten angewandt, und zwar 1. Lackfarbe einer Turiner Firma, die auf einem aus 3 Schichten, nämlich grobem, mittlerem und feinem Mörtel bestehenden Untergrund aufgetragen wurde, 2. Stuck, hergestellt durch eine Mischung von feinem Marmor- und Kalkpulver, 3. eine blaue Leimfarbe, 4. eine Papiertapete, die frei war von jeder baktericiden Substanz, und 5. Putz, bestehend aus zwei Schichten, aus grobem und mittlerem weissen Kalk. Die mit diesen 6 verschiedenen Anstrichen bekleideten Wandabtheilungen waren durch in die Mauer eingelassene, die Oberfläche etwas überragende, ausserdem noch mit Theer bestrichene Holzbrettchen von einander getrennnt und jede derselben selbst wiederum durch gleichartige Querleisten in 10 gleiche Flächenstücke abgetheilt, um so jede Verunreinigung aus der Nachbarschaft auszuschliessen. Das so vorbereitete Zimmer stand während dreier Sommermonate zum Trocknen leer. Die Beleuchtung desselben durch die Fenster und die Ventilation wurden etwa den Arbeiterwohnungen in den grösseren italienischen Städten entsprechend eingerichtet, ja es wurde auch, um den realen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen und einen gewissen Grad von Feuchtigkeit in einzelnen Wandtheilen her-

[1] A. a. O.



zustellen, in die Mauer hinein ein Wasserabfluss gebaut. Zur Infection benutzte Bosco Typhusbacillen, Choleravibrionen, Fraenkel'sche Diplokokken, Diphtheriebacillen, Milzbrandbacillen, pyogene Staphylokokken und Tuberkelbacillen, die er möglichst in den entsprechenden Absonderungen von Kranken oder sonst in flüssigen Culturen mit einem sterilen Pinsel auf die Wandflächen brachte. Nach gewissen Zeitabschnitten kratzte er dann von den einzelnen Abtheilungen immer 2 qcm ab und impfte damit Agarplatten, von denen dann wieder, um die Virulenz der noch lebensfähig gebliebenen Mikroorganismen zu prüfen, Material zur Impfung von Kaninchen und Meerschweinchen entnommen wurde.

Die Ergebnisse der sehr eingehenden, durch zahlreiche und ausführliche Tabellen erläuterten Untersuchungen sind kurz folgende: 1. Es besteht ein grosser Unterschied zwischen dem Verhalten der pathogenen Mikroorganismen auf den Mauern bewohnter Räume in Bezug auf ihre Lebensfähigkeit und ihre Virulenz. 2. Jeder Mikroorganismus verhält sich wiederum verschieden, je nach der Art der Wandfläche, auf der er sich befindet, und zwar sind nach Bosco's Untersuchungen für das Wachsthum der Bakterien am wenigsten günstig: Lackfarbenanstriche und Stuck, dann folgen Tapete, Putz, Leimfarbe und der grobe Mörtel.

Wie Deycke ist auch Bosco der Ansicht, dass in der physikalischen Beschaffenheit der von ihm geprüften Anstriche die Hauptursache ihres Verhaltens pathogenen Bakterien gegenüber begründet sei, während chemische Eigenschaften derselben nur bei den Leimfarben mit in Betracht kommen sollen. Bemerkenswerth sind hier die von Bosco gefundenen Unterschiede zwischen feuchten und trockenen Wänden. Während auf den letzteren Typhusbacillen, Choleravibrionen, Pneumoniekokken und auch Milzbrandbacillen, falls die Temperatur nicht ein Auskeimen der Sporen gestattet, nach spätestens 24 Stunden, Diphtheriebacillen nach 7 Tagen, Staphylococcus pyogenes nach einem Monat und Tuberkelbacillen nach spätestens 4 bis 5 Monaten abgestorben sind, erhalten sich die genannten Mikroorganismen auf feuchten Wänden erheblich länger lebensfähig, so z. B. der Diphtheriebacillus bis zu einem Monat und selbst der Fraenkel'sche Diplococcus 15 bis 20 Tage.

Diese soeben des Näheren erörterten theoretisch interessanten und praktisch wichtigen Untersuchungsergebnisse waren die Veranlassung zu gleichartigen, von mir auf Anregung des Hrn. Prof. C. Fraenkel im hiesigen Institute vorgenommenen Untersuchungen, und zwar wurden auf ihre etwaigen baktericiden Eigenschaften folgende Farben geprüft:



1. Vier verschiedene Porzellanemaillefarben der Firma Rosenzweig und Baumann in Kassel, die das gemeinsame Waarenzeichen ꟼR trugen und einzeln mit folgenden Nummern bezeichnet waren: Pef. 2092, Pef. 2093, Pef. 2097B und Pef. 2098B;

2. zwei Oelfarben, eine Bleiweiss- und eine Zinkweissoelfarbe;

3. Zoncafarbe Nr. 101 aus der Fabrik G. Zonca & Co. in Kitzingen a. M., Bayern;

4. Amphibolinfarbe der Amphibolinfarbwerke Ernsthofen;

5. Hyperolinfarbe der Hyperolinfarbwerke R. Deininger, Ober-Ramstedt in Hessen;

6. gewöhnliche Leimfarbe, die allerdings erst später mit in die Versuchsreihe hineingezogen wurde.

Hinzufügen will ich noch, dass wir die genannten Farben, um vor etwaigen minderwerthigen Verfälschungen geschützt zu sein, entweder von den betreffenden Fabrikanten selbst oder unter Garantie zweifelloser Echtheit bezogen.

Die Anordnung der Versuche war im Allgemeinen etwa folgende: Die einzelnen Farben wurden auf 53·29 qcm grosse Thon- oder auch auf etwa ebenso grosse Eichenholzplatten in möglichst gleichmässig dicker Schicht aufgestrichen, und zwar sind von jeder Farbe immer 2 Platten auf diese Weise hergestellt worden. Dieselben trockneten, in grosse Glasdoppelschalen gelegt, zunächst 4 bis 6 Tage und wurden alsdann nach vollständiger Oberflächentrocknung mit den betreffenden pathogenen Bakterien inficirt. Hierzu wurden Bouillonculturen der Mikroorganismen verwendet, die jedesmal so hergestellt waren, dass von einer frischen Agar- bezw. Serumcultur bei allen Versuchen mit derselben Platinöse eine diese füllende Menge des Culturrasens genommen und in je 10 ccm steriler Bouillon vertheilt worden war. Die so geimpfte Bouillon wurde auf 24 Stunden in den Brütschrank gebracht, nachher geprüft, alsdann immer möglichst dieselbe Menge auf jede Platte aufgetragen und auf derselben mit einem sterilen, feinen Haarpinsel oder einem sterilen Wattebausch gleichmässig vertheilt. Die eine Hälfte der auf diese Weise inficirten Anstriche wurde bei Licht, die andere im Dunkeln in den Glasdoppelschalen bei Zimmertemperatur aufbewahrt und in bestimmten Zwischenräumen, in der Regel nach 4, 8, 12, 24 Stunden, nach 10 und 30 Tagen, in einzelnen Fällen, wenn nach 24 Stunden noch Wachsthum festgestellt wurde, auch in der Zwischenzeit, nach 2, 3, 5 Tagen u. s. w., Material von ihnen entnommen und mit demselben jedesmal eine Bouillon- und ein Agar- oder Serum-



röhrchen geimpft. Diese wurden im Brütschrank aufgehoben und nach gewissen Zeitabschnitten auf etwaiges Wachsthum geprüft. Beim Anlegen der Culturen wurde in der Weise verfahren, dass mit einem sterilen Messer ein möglichst immer gleich grosses Stück von entsprechend nassen bezw. trockenen Stellen der gestrichenen Platten abgekratzt und dann zur Impfung verwandt wurde. Zur Controle wurden bei der Mehrzahl der Versuche auch 2 nicht mit einem Farbenanstrich versehene Platten mit der betreffenden Bakteriencultur inficirt, die eine bei Licht, die andere im Dunkeln aufgestellt und ebenfalls nachher in der eben angegebenen Weise geprüft.

Untersucht wurde die Wirkung der verschiedenen Farben auf folgende Bakterien: 1. Diphtheriebacillus, 2. Typhusbacillus, 3. Staphylococcus aureus, 4. sporenhaltiger Milzbrandbacillus, 5. Streptococcus erysipelatis und 6. Choleravibrio.

Bei der Auswahl dieser Bakterien war die Absicht maassgebend, einmal eine Anzahl jener pathogenen Mikroorganismen, die unter Umständen eine Verunreinigung der Wände von Menschen oder Thieren benutzter Räume herbeiführen, diesen Untersuchungen zu unterwerfen und andererseits auch zugleich eine Anzahl von Beispielen zu gewinnen, die aus ihrem Verhalten den zu prüfenden Anstrichen gegenüber Schlüsse auf das ihnen nahestehender und verwandter Bakterien, wie z. B. des Pestbacillus und anderer hier gleichfalls in Betracht kommender, zuliessen.

Ueber die von mir bei den einzelnen Versuchen gefundenen Ergebnisse geben die folgenden Tabellen Aufschluss:

Erklärung der Tabellen.

\+ bedeutet: Wachsthum.

— bedeutet: kein Wachsthum.

v. bedeutet: die Cultur war durch andere Bakterien oder Schimmelpilze verunreinigt.



I. Versuch mit Diphtheriebacillus. 14. II. 1900.

Untergrund: Thonplatten.

a) **4 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.**

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt								Platten bei **Licht** aufbewahrt							
		4 Stdn.	8 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	4 Stdn.	8 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	v.				—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+		
Pef. 2092	Bouillon	—	—	—	+					—	—	—	+				
	Serum	—	—	+						—	—	+					
Pef. 2093	Bouillon	—	—	+						—	—	+					
	Serum	—	—	+						—	—	+					
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe	Bouillon	—	—	+						—	—	—	+				
	Serum	—	—	—	+					—	—	—	+				
Amphibolinfarbe . .	Bouillon	—	—	+						—	—	+					
	Serum	—	—	+						—	—	+					
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	—	—	+						—	—	+					
	Serum	—	—	+						—	—	+					

b) 8 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Dunkeln 4 Stdn.	Dunkeln 16 Stdn.	Dunkeln 24 Stdn.	Dunkeln 48 Stdn.	Dunkeln 3 Tage	Dunkeln 5 Tage	Dunkeln 10 Tage	Licht 4 Stdn.	Licht 16 Stdn.	Licht 24 Stdn.	Licht 48 Stdn.	Licht 3 Tage	Licht 5 Tage	Licht 10 Tage
		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt							Platten bei **Licht** aufbewahrt						
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	—	—	+					—	—	+				
	Serum	—	—	+					—	—	+				
Pef. 2093	Bouillon	—	+						—	+					
	Serum	—	+						—	+					
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe. . . .	Bouillon	—	—	—	+				—	—	—	+			
	Serum	—	—	—	+				—	—	—	+			
Amphibolinfarbe .	Bouillon	—	+						—	+					
	Serum	—	+						—	+					
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	—	+						—	—	+				
	Serum	—	+						—	—	—	+			

c) 12 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt								Platten bei **Licht** aufbewahrt							
		12 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	36 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	12 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	36 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	zerschlagen						—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	—	+							—	—	—	+				
	Serum	—	—	—	+					—	—	—	+				
Pef. 2093	Bouillon	+								+							
	Serum	+								—	+						
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe. . . .	Bouillon	—	—	—	+					—	—	—	+				
	Serum	—	—	—	—	+				—	—	—	—	—	+		
Amphibolinfarbe .	Bouillon	+								+							
	Serum	+								+							
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	+								+							
	Serum	+								+							

d) 24 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt						Platten bei **Licht** aufbewahrt					
		12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2093	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Amphibolinfarbe. .	Bouillon	—	—	+				—	—	+			
	Serum	—	—	+				—	—	+			
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	—	—	+				—	—	+			
	Serum	—	—	+				—	—	+			



e) 2, 3, 5 und 8 Tage nach der Inficirung wird von den Amphibolin- und den Hyperolinfarbenplatten Material entnommen und damit Bouillon- und Serumröhrchen geimpft, in denen jedes Mal noch Wachsthum festzustellen war.

f) Nach 10 und nach 30 Tagen werden wieder von sämmtlichen Platten Culturen angelegt, nur die Röhrchen, die mit den von den Amphibolin- und Hyperolinfarbenplatten entnommenen Proben geimpft sind, zeigen nach 2- bezw. 3 tägiger Aufbewahrung im Brütschrank noch Wachsthum, alle anderen Röhrchen bleiben auch bei 10 tägigem Aufenthalte im Brütschrank steril.

Aus Versuch I geht also hervor:

1. Schon 4 Stunden nach der Auftragung der Diphtheriebacillen auf die mit Pef. 2097B, Pef. 2098B, Bleiweiss- und Zinkweissoelfarbe gestrichenen Platten ist in den Bouillon- und Serumröhrchen, die nach dieser Zeit mit Material von diesen Platten geimpft worden sind, ein Wachsthum der Diphtheriebacillen nicht mehr festzustellen, bei der Zoncafarbe, bei Pef. 2092 und Pef. 2093 wird dieses Ergebniss erst nach Verlauf von 24 Stunden erreicht, während die von der Amphibolin- und Hyperolinfarbenplatte 30 Tage nach der Inficirung angelegten Culturen noch Wachsthum zeigen.

2. Pef. 2097B, Pef. 2098B, Bleiweissoelfarbe und Zinkweissoelfarbe zeigen unter sich in ihrer Einwirkung auf die Diphtheriebacillen keinen Unterschied, ebenso Amphibolin- und Hyperolinfarbe unter sich.

3. Die Zoncafarbe übertrifft in der Wirkung auf die Diphtheriebacillen Pef. 2092 und Pef. 2093, wenn auch eine Abtödtung derselben auf den drei genannten gleichzeitig beobachtet worden ist; denn bei der Abimpfung nach 8 Stunden z. B. tritt auf den mit dem Material von der Zoncafarbe geimpften Röhrchen erst nach 48 Stunden im Brütschrank Wachsthum ein, während die Röhrchen mit den Proben von Pef. 2092 nach 24 und die mit den Proben von Pef. 2093 schon nach 16 Stunden, bei 37·5° aufbewahrt, ein solches erkennen lassen.

4. Zwischen den bei Licht und den im Dunkeln aufbewahrten Platten lässt sich ein bemerkenswerther Unterschied nicht feststellen.



II. Versuch mit Typhusbacillus. 1. III. 1900.

Untergrund: Thonplatten.

a) 4 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt								Platten bei **Licht** aufbewahrt							
		4 Stdn.	8 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	4 Stdn.	8 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	+					—	—	+					
	Agar	—	—	—	—	+				—	—	—	—	+			
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	+				—	—	—	+				
	Agar	—	—	—	—	+				—	—	—	—	+			
Pef. 2092	Bouillon	—	—	+						—	—	+					
	Agar	—	—	+						—	—	+					
Pef. 2093	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	+					—	—	—	—	+			
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	v.					
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe	Bouillon	—	—	+						—	—	+					
	Agar	—	—	+						—	—	+					
Amphibolinfarbe .	Bouillon	—	—	+						—	—	+					
	Agar	—	—	+						—	—	+					
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	—	—	+						—	—	+					
	Agar	—	—	+						—	—	+					

b) 8 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im Dunkeln aufbewahrt								Platten bei Licht aufbewahrt							
		4 Stdn.	16 Stdn.	24 Stdn.	32 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	4 Stdn.	16 Stdn.	24 Stdn.	32 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	+					—	—	+					
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						
Pef. 2093	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	—	—	+					—	—	—	+				
Amphibolinfarbe .	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						

c) 12 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt 12 Stdn.	20 Stdn.	30 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	Platten bei **Licht** aufbewahrt 12 Stdn.	20 Stdn.	36 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	–	–	–	–	+			–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Pef. 2092	Bouillon	–	–	+					–	+					
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+			
Pef. 2093	Bouillon	+							+						
	Agar	+							+						
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	
	Agar	–	–	–	–	–	+		–	–	–	–	–	–	–
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Zoncafarbe	Bouillon	–	–	–	+				–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	–	+			–	–	–	–	–	–	–
Amphibolinfarbe .	Bouillon	+							+						
	Agar	+							+						
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	–	–	+					–	–	+				
	Agar	–	–	–	+				–	–	+				

d) **24 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.**

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt: 4 Stdn.	8 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	Platten bei **Licht** aufbewahrt: 4 Stdn.	8 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2093	Bouillon	—	—	+					—	—	+				
	Agar	—	—	+					—	—	+				
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	+				—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe. . . .	Bouillon	—	—	—	+				—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Amphibolinfarbe. .	Bouillon	—	—	+					—	—	+				
	Agar	—	—	—	+				—	—	+				
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

e) 2, 3 und 5 Tage nach der Inficirung werden von den mit Pef. 2093 und den mit Amphibolinfarbe gestrichenen Platten in der oben angegebenen Weise Bouillon- und Agarröhrchen geimpft: Die von Pef. 2093 nach 3 Tagen angelegten zeigen bei 10 tägiger Aufbewahrung im Brütschrank kein Wachsthum; die von der Amphibolinfarbe nach 5 Tagen angefertigten lassen noch deutlich Wachsthum erkennen.

f) Nach 10 Tagen werden in der bekannten Weise von sämmtlichen Farbenplatten Röhrchen angelegt. Nur die die Proben von den Amphibolinfarbenplatten enthaltenden ergeben noch Wachsthum, und zwar nach 24 Stunden im Brütschrank. Nach 20 Tagen abgeimpft sind auch die von den Amphibolinfarbenplatten angefertigten Culturen bei 10 tägigem Aufenthalte im Brütschrank steril.

g) Abimpfung nach 30 Tagen von sämmtlichen Farbenplatten: Alle Röhrchen bleiben steril. — Versuch II ergiebt also:

1. Die beiden Oelfarben lassen die am stärksten keimtödtende Wirkung dem Typhusbacillus gegenüber erkennen; denn die Röhrchen, welche 4 Stunden nach dem Auftragen der Typhusbouillon auf die Platten angelegt werden, bleiben, selbst 10 Tage bei 37·5° aufbewahrt, steril, während dies bei Pef. 2097 B und Pef. 2098 B bei der Abimpfung nach 8 Stunden, bei der Zoncafarbe und Pef. 2092 bei der Abimpfung nach 12 Stunden, bei der Hyperolinfarbe bei der Abimpfung nach 24 Stunden, bei Pef. 2093 erst bei der Abimpfung nach 3 Tagen eintritt, und die Amphibolinfarbenröhrchen sogar erst bei der Abimpfung nach 20 Tagen steril bleiben.

2. Zwischen den beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097 B und Pef. 2098 B lässt sich ein geringer Unterschied zu Gunsten von Pef. 2098 B in der Einwirkung auf Typhusbacillen insofern feststellen, als ein Bouillonröhrchen von Pef. 2097 B in Tabelle *b* und Tabelle *c* noch Wachsthum zeigt, während von Pef. 2098 B sämmtliche Röhrchen steril geblieben sind.

3. Die Zoncafarbe übertrifft die Porzellanemaillefarbe Pef. 2092 auch in der Einwirkung auf den Erreger des Typhus abdominalis: siehe Tabelle *d* S. 85 (vergl. S. 81 Nr. 3).

4. Zwischen den im Dunkeln und bei Licht aufgestellten Platten ist auch in diesem Versuche ein bemerkenswerther Unterschied nicht zu finden. Vielleicht kann man aus dem Umstande, dass in Tabelle *c* in den von der Zoncadunkelplatte angelegten Röhrchen noch Wachsthum eintritt, während die von der Zoncalichtplatte herrührenden Culturen bereits steril bleiben, und aus gleichartigen und ähnlichen Beobachtungen bei Pef. 2097 B in Tabelle *c* und Zoncafarbe und Bleiweissölfarbe in Tabelle *d* den Schluss ziehen, dass auf den bei Licht aufbewahrten Platten eher eine Abtödtung der Keime stattfindet als auf denjenigen, die nicht dem Lichte ausgesetzt sind.



Untergrund: Eichenholzplatten.

a) 4 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt						Platten bei **Licht** aufbewahrt					
		4 Stdn.	8 Stdn.	16 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	4 Stdn.	8 Stdn.	16 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	+			—	—	—	+		
	Agar	—	—	—	+			—	—	—	+		
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	+				—	—	—	+		
	Agar	—	—	+				—	—	—	—	—	+
Pef. 2092	Bouillon	—	—	—	+			—	—	—	+		
	Agar	—	—	—	+			—	—	—	+		
Pef. 2093	Bouillon	—	—	—	+			—	—	+			
	Agar	—	—	+				—	—	+			
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	+			—	—	—	+		
	Agar	—	—	—	+			—	—	—	+		
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	+			—	—	—	+		
	Agar	—	—	—	+			—	—	—	+		
Zoncafarbe	Bouillon	—	—	—	+			—	—	—	+		
	Agar	—	—	—	+			—	—	—	+		
Amphibolinfarbe .	Bouillon	—	—	+				—	—	+			
	Agar	—	—	+				—	—	+			
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	—	—	+				—	—	+			
	Agar	—	—	—	+			—	—	+			
Leimfarbe	Bouillon	—	—	+				—	—	+			
	Agar	—	—	+				—	—	+			
Ohne Farbe . . .	Bouillon	—	—	+				—	—	+			
	Agar	—	—	+				—	—	+			

b) 8 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt								Platten bei **Licht** aufbewahrt							
		4 Stdn.	16 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	4 Stdn.	16 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B.	Bouillon	—	—	—	—	v.				—	—	—	—	+			
	Agar	—	—	—	—	—	+			—	—	—	—	+			
Pef. 2098 B.	Bouillon	—	—	—	—	—	v.			—	—	—	—		zerschlagen		
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	—	+							—	—	+					
	Agar	—	—	+						—	—	+					
Pef. 2093	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						
Bleiweissoelfarbe	Bouillon	—	—	—	—	+				—	—	—	+				
	Agar	—	—	—	—	+				—	—	—	—	—	+		
Zinkweissoelfarbe	Bouillon	—	—	—	+					—	—	—	+				
	Agar	—	—	—	—	+				—	—	—	—	—	+		
Zoncafarbe	Bouillon	—	—	—	+					—	—	—	+				
	Agar		—	—	+					—	—	—	+				
Amphibolinfarbe	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						
Hyperolinfarbe	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						
Leimfarbe	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						
Ohne Farbe	Bouillon	—	+							—	+						
	Agar	—	+							—	+						



c) 12 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im Dunkeln aufbewahrt								Platten bei Licht aufbewahrt							
		16 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	36 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	16 Stdn.	20 Stdn.	24 Stdn.	36 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	–	–	–	–	+				–	–	–	–	–	+		
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	–	–	–	–	–	–	+		–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Pef. 2092	Bouillon	–	+							–	–	+					
	Agar	–	+							–	–	–	+				
Pef. 2093	Bouillon	+								+							
	Agar	+								+							
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	–	–	–	–	+				–	–	–	+				
	Agar	–	–		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	–	–	–	+					–	–	+					
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+			
Zoncafarbe	Bouillon	–	–	–	+					–	–	+					
	Agar	–	–	–	–	+				–	–	–	+				
Amphibolinfarbe .	Bouillon	+								+							
	Agar	+								+							
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	+								+							
	Agar	+								+							
Leimfarbe	Bouillon	+								+							
	Agar	+								+							
Ohne Farbe . . .	Bouillon	+								+							
	Agar	+								+							



d) 24 Stunden nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt							Platten bei **Licht** aufbewahrt						
		4 Stdn.	8 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	4 Stdn.	8 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	v.			—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	—	—	—	—	+			—	—	+				
	Agar	—	—	—	—	+			—	—	+				
Pef. 2093	Bouillon	—	—	+					—	—	+				
	Agar	—	—	+					—	—	+				
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Amphibolinfarbe .	Bouillon	—	—	+					—	—	+				
	Agar	—	—	+					—	—	+				
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	—	—	+					—	—	+				
	Agar	—	—	+					—	—	+				
Leimfarbe	Bouillon	—	—	+					—	—	+				
	Agar	—	—	+					—	—	+				
Ohne Farbe . . .	Bouillon	—	—	+					—	—	+				
	Agar	—	—	+					—	—	+				

e) Nach 2 und 5 Tagen werden von den Pef. 2092-, den Pef. 2093-, den Amphibolin-, den Hyperolin- und den Leimfarbenplatten in derselben Weise wie bisher Bouillon- und Agarröhrchen geimpft und 10 Tage lang bei 37·5° beobachtet: Auf den Pef. 2092-Röhrchen ist nach 48 Stunden, auf den mit Pef. 2093 nach 5 Tagen kein Wachsthum mehr festzustellen, während auf denen mit Amphibolin-, Hyperolin- und Leimfarben auch nach 5 Tagen ein solches noch eintritt.

f) Auch nach 10 Tagen und ebenso nach 30 Tagen zeigt sich auf den von den Amphibolin-, von den Hyperolin- und von den Leimfarbenplatten angelegten Röhrchen noch Entwickelung, während die von sämmtlichen anderen Farbenplatten hergestellten Culturen beide Male steril bleiben.

Aus Versuch III ersehen wir also:

1. Dem Staphylococcus aureus gegenüber erweist sich Porzellanemaillefarbe Pef. 2098 B am wirksamsten, die nach 8 Stunden Einwirkung ein Wachsthum verhindert, dann folgen Porzellanemaillefarbe Pef. 2097 B und die beiden Oelfarben, die nach 12 Stunden diese Wirkung hervorbringen, nach 24 Stunden bleiben die von den Zoncafarbenplatten angelegten Röhrchen steril, nach 48 Stunden die von Porzellanemaillefarbe Pef. 2092 und nach 5 Tagen die von Porzellanemaillefarbe Pef. 2093, während bei der Amphibolin-, der Hyperolin- und der Leimfarbe selbst nach 30 Tagen eine keimtödtende Wirkung nicht festgestellt werden kann.

2. Zwischen der Porzellanemaillefarbe Pef. 2097 B und den beiden Oelfarben lässt sich hinsichtlich ihrer baktericiden Eigenschaft dem Staphylococcus aureus gegenüber ein besonders bemerkenswerther Unterschied nicht erkennen.

3. Wie in dem vorigen Versuch, so tritt auch bei diesem einige Male auf den bei Licht aufgestellten Platten eine etwas raschere Abtödtung oder wenigstens wachsthumhemmende Wirkung ein, als auf den im Dunkeln aufbewahrten, doch wird andererseits einige Male auch gerade das Umgekehrte beobachtet, indem auf den Dunkelplatten die Kokken früher abstarben, als auf den belichteten, wie z. B. in Tabelle *c* (Seite 89) bei den beiden Oelfarben und der Zoncafarbe und in Tabelle *d* bei der Porzellanemaillefarbe Pef. 2092.



IV. Versuch mit Milzbrandbacillus (sporenhaltig). 14. V. 1900.
Untergrund: Thonplatten.

Abgeimpft nach der Inficirung:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt										Platten bei **Licht** aufbewahrt									
		a 4 Std.		*b* 8 Std.		*c* 12 Std.		*d* 24 Std.		*e* 3 Tage		*a* 4 Std.		*b* 8 Std.		*c* 12 Std.		*d* 24 Std.		*e* 3 Tage	
Wachsthum bei 37·5° nach:		4 Stunden	18 Stunden	12 Stunden	24 Stunden	12 Stunden	24 Stunden	20 Stunden	36 Stunden	16 Stunden	24 Stunden	4 Stunden	18 Stunden	12 Stunden	24 Stunden	12 Stunden	24 Stunden	20 Stunden	36 Stunden	16 Stunden	24 Stunden
Pef. 2097 B.	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	+		—	+	—	+	—	+		+	+		—	+	+		—	+
Pef. 2098 B.	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	+		—	+	+		—	+	—	+	+		—	+	+		—	+
Pef. 2092	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
Pef. 2093	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
Bleiweissoelfarbe	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	+		—	+
Zinkweissoelfarbe	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
Zoncafarbe	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
Amphibolinfarbe	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
Hyperolinfarbe	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
Leimfarbe	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
Ohne Farbe	Bouillon	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	
	Agar	—	+	+		+		+		+		—	+	+		+		+		+	

(Fortsetzung.)

Abgeimpft nach der Inficirung:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt								Platten bei **Licht** aufbewahrt							
		f 6 Tage			*g* 14 Tage					*f* 6 Tage			*g* 14 Tage				
Wachsthum bei 37·5° nach:		16 Stunden	20 Stunden	48 Stunden	24 Stunden	48 Stunden	3 Tage	5 Tage	10 Tage	16 Stunden	20 Stunden	48 Stunden	24 Stunden	48 Stunden	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B.	Bouillon	+			—	+				+			—	+			
	Agar	—	+		—	+				—	+		—	—	—	—	—
Pef. 2098 B.	Bouillon	+			—	+				+			v.				
	Agar	—	+		—	+				+			—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	+			+					+			+				
	Agar	+			—	+				+			—	+			
Pef. 2093	Bouillon	+			+					+			+				
	Agar	+			—	+				+			—	+			
Bleiweissoelfarbe	Bouillon	+			—	+				+			—	—	—	—	—
	Agar	+			—	+				—	+		—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe	Bouillon	+			—	+				+			—	+			
	Agar	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+		—	—	—	—	—
Zoncafarbe	Bouillon	+			—	+				+			—	+			
	Agar	—	+		+					—	+		—	—	—	+	
Amphibolinfarbe	Bouillon	+			+					+			+				
	Agar	+			+					+			+				
Hyperolinfarbe	Bouillon	+			+					+			+				
	Agar	+			+					+			+				
Leimfarbe	Bouillon	+			+					+			+				
	Agar	+			+					+			+				
Ohne Farbe	Bouillon	+			+					+			+				
	Agar	+			+					+			+				



h) 30 Tage nach der Inficirung abgeimpft.

Wachsthum bei 37·5° nach:		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt						Platten bei **Licht** aufbewahrt					
		16 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage	16 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.	3 Tage	5 Tage	10 Tage
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	v.		
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	v.				—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	—	—	—	+			—	—	—	—	+	
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	
Pef. 2093	Bouillon	—	—	—	+			+					
	Agar	—	—	—	—	+		—	—	—	—	+	
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	v.		—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe	Bouillon	—	+					—	—	—	+		
	Agar	—	—	—	—	+		—	—	—	—	+	
Amphibolinfarbe .	Bouillon	+						+					
	Agar	+						+					
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	+						+					
	Agar	+						+					
Leimfarbe	Bouillon	+						+					
	Agar	+						+					
Ohne Farbe . . .	Bouillon	+						+					
	Agar	+						+					

Der Versuch IV ergiebt:

Auch den Sporen des Erregers des Milzbrandes gegenüber tritt seitens der bei den bisherigen Versuchen wirksamsten Farbenanstriche, nämlich derjeningen mit den Porzellanemaillefarben Pef. 2097 B und Pef. 2098 B und mit den beiden Oelfarben, eine gewisse Wirkung hervor: Bleibt doch 30 Tage nach der Inficirung das Wachsthum vollständig aus, nachdem schon nach 14 Tagen bei diesen Farben eine deutliche Einwirkung zu bemerken gewesen ist. Auf den von den übrigen Farbenplatten angelegten Röhrchen ist aber auch nach 30 Tagen noch Wachsthum festzustellen.

V. Versuch mit Streptococcus erysipelatis. 23. VI. 1900.
Untergrund: Holzplatten.

		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt							Platten bei **Licht** aufbewahrt						
Abgeimpft nach der Inficirung:		*a* 4 Std.		*b* 8 Stunden					*a* 4 Std.		*b* 8 Stunden				
Wachsthum bei 37·5° nach:		12 Stunden	24 Stunden	1 Tagen	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen	12 Stunden	24 Stunden	1 Tagen	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen
Pef. 2097 B.	Bouillon	+		—	—	+			—	+	—	+			
	Agar	—	+	—	—	—	+		—	+	—	—	—	+	
Pef. 2098 B.	Bouillon	—	+	—	+				+		—	+			
	Agar	—	+	—	—	+			—	+	—	—	—	+	
Pef. 2092 .	Bouillon	+		+					+		+				
	Agar	+		—	+				—	+	—	+			
Pef. 2093 .	Bouillon	+		+					+		+				
	Agar	+		+					+		+				
Bleiweiss-oelfarbe	Bouillon	+		—	—	+			—	+	—	—	—	+	
	Agar	—	+	—	—	—	+		—	+	—	—	—	—	—
Zinkweiss-oelfarbe	Bouillon	+		—	—	v.			+		—	—	+		
	Agar	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	
Zoncafarbe	Bouillon	+		+					+		+				
	Agar	—	+	—	+				+		+				
Amphibolin-farbe	Bouillon	+		+					+		+				
	Agar	+		+					+		+				
Hyperolin-farbe	Bouillon	+		+					+		+				
	Agar	+		+					+		+				
Leimfarbe	Bouillon	+		+					+		+				
	Agar	+		+					+		+				
Ohne Farbe	Bouillon	+		+					+		+				
	Agar	+		+					+		+				

(Fortsetzung.)

Abgeimpft nach der Inficirung:		Platten im Dunkeln aufbewahrt										Platten bei Licht aufbewahrt									
		c 12 Stunden					d 24 Stunden					c 12 Stunden					d 24 Stunden				
Wachsthum bei 37·5° nach:		1	2	3	5	10	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10
		Tagen					Tagen					Tagen					Tagen				
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+		—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	Bouillon	—	+				—	—	—	—	—	+					—	—	—	—	—
	Agar	—	—	+			—	—	—	—	—	—	—	+			—	—	—	—	—
Pef. 2093	Bouillon	+					—	—	—	+		+					—	+			
	Agar	+					—	—	+			+					—	—	+		
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	v.				
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	v.		
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe	Bouillon	—	+				—	—	—	—	—	+					—	—	—	—	—
	Agar	—	+				—	—	—	—	—	—	+				—	—	—	—	—
Amphibolinfarbe .	Bouillon	+					+					+					+				
	Agar	+					+					+					+				
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	+					+					+					+				
	Agar	+					+					+					+				
Leimfarbe	Bouillon	+					+					+					+				
	Agar	+					+					+					+				
Ohne Farbe . . .	Bouillon	+					+					+					+				
	Agar	+					+					+					+				



e) Nach 2, ferner nach 3 Tagen und ebenso nach 5 Tagen werden von den Pef. 2093-, den Amphibolin-, Hyperolin-, den Leimfarbenplatten und denjenigen ohne Farbenanstrich Bouillon- und Agarröhrchen geimpft. Nach 3 Tagen findet auf den von der Pef. 2093-Platte angelegten Röhrchen kein Wachsthum mehr statt, während es bei den übrigen 3 nach dem 5. Tage noch eintritt.

f) Nach 10 und ebenso nach 30 Tagen bleiben die mit Material von den 4 Porzellanemaillefarben-, den beiden Oelfarben- und den Zoncafarbenplatten geimpften Bouillon- und Agarröhrchen bei 10tägiger Beobachtung im Brütschrank steril, während die von den Amphibolin-, den Hyperolin- den Leimfarbenplatten und die von den Platten ohne Farbenanstrich hergestellten Culturen in beiden Fällen noch deutliches Wachsthum erkennen lassen.

Die Ergebnisse des Versuch V sind also folgende:

1. Die kräftigste desinficirende Wirkung dem Streptococcus erysipelatis gegenüber zeigt sich bei den Anstrichen mit Porzellanemaillefarbe 2097B und 2098B und in gleicher Weise auf denen mit den beiden Oelfarben. Auf den mit diesen Farben gestrichenen Platten findet nach 12 Stunden kein Wachsthum mehr statt. Nach 24 Stunden bleibt dieses dann auch auf den Zoncafarben- und den mit Porzellanemaillefarbe Pef. 2092 gestrichenen Platten aus. Die mit Proben von den Porzellanemaillefarbe Pef. 2093-Platten geimpften Röhrchen bleiben erst nach 3 Tagen steril und die von den Amphibolin-, den Hyperolin- und den Leimfarbenplatten angelegten Culturen zeigen auch nach 30 Tagen noch Wachsthum des Streptococcus erysipelatis.

2. Die Porzellanemaillefarben Pef. 2097B und Pef. 2098B, die Zinkweiss- und die Bleiweissoelfarbe lassen unter sich in ihrer Einwirkung auf den Streptococcus keinen bemerkenswerthen Unterschied erkennen, dasselbe trifft auch bei der Zoncafarbe und der Porzellanemaillefarbe Pef. 2092 zu (vergl. Seite 81, Nr. 3).

3. Zwischen den bei Licht und den im Dunkeln aufgestellen Platten ergaben sich auch in diesem Versuch keine Unterschiede.

VI. Versuch mit Choleravibrio. 19. X. 1900.

Untergrund: Thonplatten.

Es wird mit jeder Farbe nur je eine Platte gestrichen, die dann nach der Inficirung bei Licht in Zimmertemperatur aufbewahrt werden.



Zur Inficirung selbst werden nicht Bouillon-, sondern Peptonwasserculturen des Choleravibrio benutzt, ebenso werden nach der Impfung nicht Bouillon- und Agarröhrchen, wie in den früheren Versuchen, sondern auch hier solche mit Peptonwasser angewandt.

Die Herstellung der zu benutzenden Peptonwasser-Choleracultur geschah genau in der oben (Seite 75) für die Bouillonculturen angegebenen Weise.

Abgeimpft nach der Inficirung:	*a* 4 Stunden					*b* 8 Stunden					*c* 12 Stunden					*d* 24 Stunden				
Wachsthum bei 37·5° nach:	1 Tagen	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen	18 St.	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen	16 St.	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen	1 Tagen	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen
Pef. 2097 B.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2098 B.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2093	+					+					+					—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bleiweissoelfarbe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Amphibolinfarbe	+					+					—	+				—	—	—	—	—
Hyperolinfarbe	+					+					—	+				—	—	—	—	—
Leimfarbe	+					+					+					—	—	—	—	—
Ohne Farbe	+					+					+					—	—	—	v.	

e) Bei der Abimpfung nach 10 und bei der nach 30 Tagen war nirgends mehr ein Wachsthum festzustellen.

Aus Versuch VI ersehen wir also:

Dass die Choleravibrionen auf den meisten der geprüften Anstrichfarben rasch, 4 Stunden nach der Inficirung der Platten mit denselben, absterben, nämlich auf den Porzellanemaillefarben Pef. 2097 B,



Pef. 2098B und Pef. 2092, auf den beiden Oelfarben und auf der Zoncafarbe, aber auch auf der Porzellanemaillefarbe Pef. 2093, auf der Amphibolin-, der Hyperolin- und der Leimfarbe tritt nach 24 Stunden kein Wachsthum mehr ein.

Allgemeine Bemerkungen zu den Versuchen:

1. Der auffallende Umstand, dass sich, wie in den oben wiedergegebenen Versuchen hervorgehoben wurde, ein Unterschied zwischen den bei zerstreutem Tageslicht und den im Dunkeln aufgestellten Platten nicht hat feststellen lassen — diese Beobachtung war die Veranlassung, dass beim Versuch VI (vergl. Seite 97) nur eine Platte mit jeder Farbe bestrichen wurde — findet vielleicht darin seine Erklärung, dass die bakterientödtende Kraft des zerstreuten Tageslichtes eben erheblich viel langsamer zur Geltung kommt, als die durch gewisse Substanzen der Porzellanemaille-, der Oelfarben und der Zoncafarbe hervorgerufene desinficirende Wirkung der betreffenden Farben, sterben doch z. B. Tuberkelbacillen[1], auch wenn sie dicht am Fenster, vor directem Sonnenlicht geschützt, aufgestellt werden, erst in 5 bis 7 Tagen ab. Bei den übrigen mitgeprüften Farben, der Amphibolin-, der Hyperolin- und der Leimfarbe liegt die Ursache dieser Erscheinung wohl darin, dass bei diesen die aufgetragene bakterienhaltige Flüssigkeit sehr schnell in den Anstrich eindringt und so der Einwirkung des Lichtes entzogen wird.

2. Bei den bisher angeführten Versuchen hatten Thon- oder Eichenholzplatten, also poröses Material, als Untergrund für den Anstrich gedient, es galt nun festzustellen, ob etwa bei Anwendung eines nicht porösen, anders gearteten Untergrundes ein Einfluss desselben auf die desinficirende Wirkung der einzelnen Anstriche sich zeigen würde. Es wurden daher zwei weitere Versuche (Nr. VII und VIII) angestellt und bei dem einen Glas-, bei dem zweiten Blechplatten als Untergrund benutzt. Die Anordnung war genau dieselbe wie bei den früheren. Zur Inficirung wurde beide Male Bouilloncultur von Staphylococcus aureus angewandt. Die Ergebnisse dieser beiden Versuche stimmen nun sowohl unter sich, als auch mit denen des Versuchs III (Staphylococcus aureus auf Eichenholzplatten) im Grossen und Ganzen überein. Ich kann mich daher darauf beschränken, im Folgenden nur den einen Versuch des Näheren mitzutheilen:

[1] Koch, X. internationaler medicin. Congress. Berlin 1890. *Verhandlungen.* Bd. I. S. 42.

VII. Versuch mit Staphylococcus aureus. 22. VI. 1900.
Untergrund: Glasplatten.

		Platten im Dunkeln aufbewahrt									Platten bei Licht aufbewahrt								
Abgeimpft nach der Inficirung:		a 4 Stunden				b 8 Stunden					a 4 Stunden				b 8 Stunden				
Wachsthum bei 37·5° nach:		4	8	18	24	4	16	20	24	48	4	8	18	24	4	16	20	24	48
		Stunden				Stunden					Stunden				Stunden				
Pef. 2097 B.	Bouillon	−	−	−	+	−	−	−	+		−	−	−	+	−	−	−	+	
	Agar	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	+
Pef. 2098 B.	Bouillon	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	+
	Agar	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	+
Pef. 2092	Bouillon	−	−	+		−	−	+			−	−	+		−	−	+		
	Agar	−	−	−	+	−	−	−	+		−	−	−	+	−	−	+		
Pef. 2093	Bouillon	−	−	+		−	+				−	−	+		−	+			
	Agar	−	−	+		−	+				−	−	−	+	−	+			
Bleiweissoelfarbe	Bouillon	−	−	−	+	−	−	−	+		−	−	−	+	−	−	−	+	
	Agar	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	+	
Zinkweissoelfarbe	Bouillon	−	−	+		−	−	−	+		−	−	−	+	−	−	−	−	+
	Agar	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	+
Zoncafarbe	Bouillon	−	−	+		−	−	+			−	−	+		−	−	−	+	
	Agar	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	+	
Amphibolinfarbe	Bouillon	−	−	+		−	+				−	−	+		−	+			
	Agar	−	−	+		−	+				−	−	+		−	+			
Hyperolinfarbe	Bouillon	−	−	+		−	+				−	−	+		−	+			
	Agar	−	−	−	+	−	+				−	−	+		−	+			
Leimfarbe	Bouillon	−	−	+		−	+				−	−	+		−	+			
	Agar	−	−	+		−	+				−	−	+		−	+			
Ohne Farbe	Bouillon	−	−	+		−	+				−	−	+		−	+			
	Agar	−	−	+		−	+				−	−	+		−	+			

(Fortsetzung.)

		Platten im **Dunkeln** aufbewahrt										Platten bei **Licht** aufbewahrt									
Abgeimpft nach der Inficirung:		*a* 12 Stunden					*b* 24 Stunden					*a* 12 Stunden					*b* 24 Stunden				
Wachsthum bei 37·5° nach:		1	2	3	5	10	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10
		Tagen					Tagen					Tagen					Tagen				
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	–	–	–	+		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Pef, 2098 B. . . .	Bouillon	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Pef. 2092	Bouillon	–	+				–	–	+			+					–	–	+		
	Agar	–	+				–	–	+			–	+				–	–	+		
Pef. 2093	Bouillon	+					+					+					+				
	Agar	+					+					+					+				
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Zoncafarbe	Bouillon	–	+				–	–	–	–	–	–	+				–	–	–	+	
	Agar	–	–	+			–	–	–	–	–	–	+				–	–	–	–	–
Amphibolinfarbe .	Bouillon	+					+					+					+				
	Agar	+					+					+					+				
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	+					+					+					+				
	Agar	+					+					+					+				
Leimfarbe	Bouillon	+					+					+					+				
	Agar	+					+					+					+				
Ohne Farbe . . .	Bouillon	+					+					+					+				
	Agar	+					+					+					+				

e) Von den nach 2, 3, 5 und 7 Tagen angelegten Bouillon- und Agarröhrchen der Porzellanemaillefarbenplatte Pef. 2092 und Pef. 2093, ferner der Amphibolin-, der Hyperolin- und der Leimfarbenplatte bleiben nach 3 Tagen die von Porzellanemaillefarbe Pef. 2092 und nach 7 Tagen die von Porzellanemaillefarbe Pef. 2093 geimpften steril. Bei den von den 3 anderen Farben angelegten Culturen tritt noch Wachsthum ein.

f) Dasselbe zeigt sich auf den letzterwähnten auch noch nach 10 und nach 30 Tagen.

Zusammenstellung der Ergebnisse von Versuch III, VII u. VIII.

Untergrund:	Pef. 2097 B.	Pef. 2098 B.	Zinkweiss-oelfarbe	Bleiweiss-oelfarbe	Zoncafarbe	Pef. 2092	Pef. 2093	Amphibolin-farbe	Hyperolin-farbe	Leimfarbe
Holzplatten	12[1]	8	12	12	24	48	5 Tage	nach 30 Tagen noch Wachsthum		
Glasplatten	12	12	12	12	24	3 Tage	7 „	nach 30 Tagen noch Wachsthum		
Blechplatten	12	12	12	12	24	3 „	5 „	nach 30 Tagen noch Wachsthum		

[1] Die Zahlen bedeuten, dass nach der angegebenen Anzahl Stunden oder Tage Wachsthum nicht mehr festzustellen war.

Zur Erklärung dafür, dass der für die Anstriche gewählte Untergrund ohne bemerkenswerthen Einfluss auf die Wirkung derselben den Bakterien gegenüber ist, diente der folgende Versuch Nr. IX: Auf jede Seite der mit den verschiedenen Farben bestrichenen Thonplatten wurde je ein Glastrichter luftdicht mit Siegellack befestigt, diese dann mit einer Saugpumpe in Verbindung gebracht und nun der Versuch gemacht, Luft und Wasser durch die einzelnen Platten hindurchzusaugen. Dies gelang bei den mit den Porzellanemaillefarben, den Oelfarben und der Zoncafarbe bestrichenen nicht, diese waren durch den Anstrich für Gas und Wasser undurchlässig, also den von vornherein nicht porösen Glas- und Eisenblechplatten völlig gleichartig geworden.

Die Ergebnisse der 6 ersten, grundlegenden, oben im Einzelnen wiedergegebenen Versuche sind in folgender Tabelle zusammengestellt:



Bakterienart:	Pef. 2097 B.	Pef. 2098 B.	Zinkweiss-oelfarbe	Bleiweiss-oelfarbe	Zoncafarbe	Pef. 2092	Pef. 2093	Amphibolin-farbe	Hyperolin-farbe	Leimfarbe
Choleravibrio	4[1]	4	4	4	4	4	24	24	24	24
Diphtheriebacillus . .	4	4	4	4	24	24	24	nach 30 Tg. n. Wachsth.		—
Typhusbacillus . . .	8	8	4	4	12	12	3 Tg.	20 Tg.	24	—
Staphylococcus aureus .	12	8	12	12	24	48	5 „	nach 30 Tagen noch Wachsth.		
Streptococcus erysipelat.	12	12	12	12	24	24	3 „	nach 30 Tagen noch Wachsth.		
Milzbrandbacillus . . (sporenhaltig)	30 Tg.	30 Tg.	30 Tg.	30 Tg.	nach 30 Tagen noch Wachsthum					

[1] Die Zahlen bedeuten, dass nach der angegebenen Anzahl Stunden bezw. Tage Wachsthum nicht mehr festzustellen war.

Auch unsere Versuche zeigen, dass zwischen den einzelnen Farbenanstrichen ganz erhebliche Unterschiede hinsichtlich ihrer desinficirenden Wirkung bestehen. Am kräftigsten zeigt sich dieselbe bei den beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097B und Pef. 2098B und den beiden Oelfarben, es folgen die Zoncafarbe und die Porzellanemaillefarbe Pef. 2092, dann die Porzellanemaillefarbe Pef. 2093 und schliesslich Amphibolin-, Hyperolin- und Leimfarbe. Will man das Verhältniss der Lebensfähigkeit pathogener Keime auf den verschiedenen Anstrichfarben, wie es sich aus unseren Versuchen darstellt, in Zahlen ausdrücken, so würde es etwa so geschehen: 1:2:8:70 (∞), d. h. setzt man die Dauer der Lebensfähigkeit der Bakterien auf den Porzellanemaillefarben Pef. 2097B und Pef. 2098B, sowie auf den beiden Oelfarben = 1, so beträgt sie auf Zonca- und Porzellanemaillefarbe Pef. 2092 gut doppelt, auf Porzellanemaillefarbe Pef. 2093 etwa 8 Mal und auf Amphibolin-, Hyperolin- und Leimfarbe mindestens 70 Mal so lange als auf den zuerst genannten Anstrichen, falls man bei diesen drei überhaupt von einer Wirkung reden kann.

Angesichts dieses so auffallenden, ganz erheblichen Unterschiedes in der desinficirenden Wirkung der einzelnen Anstrichfarben drängt sich die Frage nach der Ursache dieses so sehr in's Auge tretenden differenten Verhaltens der einzelnen Farben, besonders aber auch der 4 Porzellanemaillefarben unter einander gleichsam von selbst auf. Die oben (S. 71 und 74) näher erörterten, von Deycke und Bosco

besonders betonten physikalischen Verhältnisse der einzelnen Farbenanstriche spielen gewiss wohl eine Rolle mit, sie erklären uns z. B. den Unterschied zwischen dem in sich festgefügten, mit einer festen, glatten Oberfläche ausgestatteten Porzellanemaillefarben- und dem mehr lockeren, an der Oberfläche leicht bröckligen Amphibolinfarbenanstrich. Zur vollständigen Erklärung jedoch reichen sie keineswegs aus. Dies beweist uns in erster Linie schon der so auffällige Untersuchungsbefund bei den beiden Gruppen der Porzellanemaillefarben, bei denen die physikalische Beschaffenheit doch die gleiche ist. Es müssen hier also wohl chemische Eigenschaften den Ausschlag geben. Heimes hat nun die Vermuthung ausgesprochen, dass die desinficirende Wirkung einzelner Farben auf gewisse bei der Oxydation entstehende Körper, wie z. B. das Ozon, das Wasserstoffsuperoxyd zurückzuführen sei. Zur Klarlegung dieses Punktes wurden einige Versuche angestellt, die im Folgenden kurz erörtert werden sollen. Um zu erkennen, ob eine etwaige verschieden starke Ozonentwickelung als Ursache angenommen werden könnte (Versuch X), wurde der Boden je eines Petrischälchens mit einer der zu prüfenden Anstrichfarben bedeckt und an der Innenseite des Deckels je ein Streifen Schönbein'schen Ozonpapiers und ein solcher rothen, vorher mit Jodkaliumstärkelösung getränkten Lackmuspapiers befestigt. Es stellte sich alsdann heraus, dass gerade die im Verhältniss am wenigsten wirksame Porzellanemaillefarbe 2093 die intensivste Blaufärbung des Ozon- und des Lackmuspapierstreifens hervorrief. Bei den am kräftigsten desinficirend wirkenden Farben dagegen, den Oel- und den beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097 B und Pef. 2098 B wurde das Schönbein'sche Papier nur ganz schwach blau tingirt und das rothe Lackmuspapier blieb über den letztgenannten sogar vollständig unverändert. Wie von vornherein zu erwarten, zeigte sich bei den mit Wasser angerührten Amphibolin- und Hyperolinfarben (die Leimfarbe war zur Zeit noch nicht mit in die Versuchsreihe aufgenommen worden) nicht die geringste Spur einer Ozonentwickelung, das Papier behielt sein ursprüngliches Aussehen.

Ebensowenig wie Ozon konnte Wasserstoffsuperoxyd als etwaige Ursache der desinficirenden Wirkung angesehen werden, da sich eine Entwickelung desselben bei den einzelnen Farbenanstrichen mit Sicherheit überhaupt nicht nachweisen liess.

Auch so also war eine Erklärung nicht gegeben!

Die Beobachtung, dass die beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097 B und Pef. 2098 B in der hier in Betracht kommenden Beziehung mit den Oelfarben in eine Linie zu stellen sind, sowie der Umstand, dass bei den Porzellanemaillefarben, den Oelfarben und der Zoncafarbe der Farb-



körper im Wesentlichen derselbe ist, führten dazu, die Ursache der so verschiedenen Einflüsse den Bakterien gegenüber in dem Bindemittel zu suchen. Dieses ist nun bei den Oelfarben, wenigstens bei den guten Fabrikaten unter ihnen, reines, unverfälschtes Leinoel. Muss man doch auch hierauf sein Augenmerk richten und sich gegen minderwerthige Nachahmungen sichern, die in neuester Zeit als Ersatzmittel des echten Leinoeles in den Handel gebracht und bei der Herstellung von Farben verwandt werden. Ich will desshalb noch besonders bemerken, dass wir die oben (S. 75) erwähnten Vorsichtsmaassregeln auch beim Bezuge der beiden Oelfarben nicht ausser Acht gelassen haben, eine Vorsorge, deren Bedeutung sich dann im Laufe der weiteren Untersuchungen herausstellte. Wegen der 4 von der Firma Rosenzweig & Baumann bezogenen Porzellanemaillefarben wandte ich mich an diese mit der Frage, ob bei allen uns übersandten Farben dasselbe Bindemittel gebraucht würde, bezw. welche, und erhielt bereitwilligst dahin gehende Auskunft, dass neben anderen Substanzen, die Geheimniss der Firma sind, bei den beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097 B und Pef. 2098 B, die bei unseren Versuchen stets am schnellsten ein Absterben der Bakterien herbeigeführt hatten, ein in besonderer Weise durch Kochen und Zusatz verschiedener Stoffe hergestellter Leinoelfirniss das wesentlichste Bindemittel sei, während dieses bei den Porzellanemaillefarben Pef. 2092 und Pef. 2093 in der Hauptsache, und zwar bei dieser zu einem noch erheblich grösseren Theile als bei jener, aus Terpentinoel bestünde. Es musste also das gekochte Leinoel kräftigere desinficirende Eigenschaften besitzen als das Terpentinoel, das bekanntlich in der Berührung mit dem Sauerstoff der Luft Ozon, dem bakterienfeindliche Wirkungen zukommen, entwickelt. Gasförmige, chemische Körper müssen es demnach sein, die hier die ausschlaggebende Rolle spielen! Und in der That, beim Stehen an der Luft liefert das gekochte Leinoel erheblich stärker wirkende derartige flüchtige Substanzen als das Ozon bildende Terpentinoel. Als Beweis für diese letzten Behauptungen lässt sich folgender Versuch Nr. XI anführen: Ein Petrischälchen wurde mit Leinoel, ein zweites mit Terpentinoel bis zur gleichen Höhe gefüllt, in jedes kam auf 2 Glasbänkchen ein Objectträger, auf den eine in beiden Fällen gleiche Menge einer Bouilloncultur des Staphylococcus aureus aufgetragen wurde. Die Schälchen wurden alsdann verschlossen, bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt, in bestimmten Zeitabschnitten mit der Platinöse etwas Material von den Objectträgern entnommen und damit immer je ein Bouillon- und ein Agarröhrchen geimpft, die dann zur weiteren Entwickelung in den Brütschrank gestellt wurden. Das Ergebniss dieses Versuches war nun folgendes: Auf allen innerhalb der ersten 24 Stunden mit dem abgeimpften



Material inficirten Agar- und Bouillonröhrchen fand Wachsthum statt, doch trat dieses in denen, die mit Proben von dem über dem Leinoel aufgestellten Objectträger geimpft waren, jedes Mal deutlich langsamer ein als in den Röhrchen, die mit Bouillon von dem über dem Terpentinoel aufgestellten Objectträger beschickt worden waren. Nach 48 Stunden abgeimpft fand bei den „Leinoelröhrchen“, wie ich die ersteren der Kürze halber bezeichnen will, Wachsthum nicht mehr statt, während dasselbe in den „Terpentinoelröhrchen“ noch eintrat und hier auch noch an einigen späteren Tagen beobachtet werden konnte. Die von dem Leinoel entwickelten gasförmigen chemischen Verbindungen besitzen also eine deutlich stärkere, das Bakterienwachsthum hemmende und vernichtende Kraft als das Ozon.

Welche chemischen flüchtigen Körper werden nun beim Trocknen des gekochten Leinoels, des Leinoelfirniss, gebildet? Aus einschlägigen, von Fachleuten angestellten Untersuchungen, so z. B. aus den von Kissling[1] angegebenen ersehen wir, dass beim Trocknen des gekochten Leinoels ein sehr langsam sich vollziehender Oxydationsprocess vor sich geht, bei dem neben der Aufnahme von Sauerstoff die Abgabe von Kohlensäure, Wasser und flüchtigen Fettsäuren statthat, und zwar werden, wie Kissling in einer anderen Arbeit[2] gezeigt hat, die niederen Glieder der Säuren der Methanreihe, also Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Propionsäure u. s. w. bei einem derartigen Oxydationsprocess in Freiheit gesetzt. Dass flüchtige Säuren, sowohl die Kohlensäure, als auch die Fettsäuren desinficirende Eigenschaften besitzen, unterliegt wohl keinem Zweifel, ist doch die antiseptische Wirkung der Ameisensäure z. B. hinlänglich bekannt. Es lag aber der Gedanke nahe, dass, wenn beim Trocknen des Leinoels sich die genannten flüchtigen Fettsäuren entwickeln, ebenso deren intermediäre Vorstufen, die Aldehyde, vielleicht auch das in letzter Zeit auf seine desinficirende Eigenschaft genau geprüfte und als besonders wirksam befundene Formaldehyd sich bilden und so zur keimtödtenden Kraft der betreffenden Farbenanstriche mit beitragen könnte.

Es wurde also demgemäss zuerst folgender Versuch (Nr. XII) angestellt: Zwei Petrischälchen wurden gleichmässig mit gekochtem Leinoel gefüllt, in dem Deckel des einen wurde blaues Lackmuspapier, in dem des zweiten das ausserordentlich viel empfindlichere Azolithminpapier, um so auch etwa nur vorhandene Spuren flüchtiger Säuren zu

[1] Kissling, Ueber die Ermittelung der Oxydationsfähigkeit von Leinoelfirniss („gekochtem Leinoel“). *Zeitschrift für angew. Chemie.* 1898. S. 361—362.

[2] Derselbe, Ueber die Selbsterwärmung von fetten Oelen, die in faserigen und porösen Stoffen vertheilt sind. *Ebenda.* 1895. S. 45.



erkennen, befestigt, ein drittes Schälchen wurde nicht mit Leinoel beschickt, in seinem Deckel aber gleichfalls blaues Lackmuspapier und Azolithminpapier befestigt. Nach verhältnissmässig kurzer Zeit, ungefähr nach 12 bis 16 Stunden, waren in den mit Leinoel gefüllten Schälchen beide Reagenspapierstreifen sehr deutlich roth gefärbt, während sie in dem dritten unverändert waren und auch blieben. Es hatte also eine starke Entwickelung flüchtiger Säuren stattgefunden.

Um die Natur derselben festzustellen und vielleicht auch die Entwickelung von Aldehyden nachzuweisen, wurde folgendermaassen verfahren (Versuch Nr. XIII): Ich benutzte eine 4850 ^{ccm} fassende Glasschale, in deren Deckel sich zwei Oeffnungen befanden. Dieselben konnten mit Gummipfropfen, durch die je eine rechtwinklig gebogene, durch einen Hahn verschliessbare Glasröhre hindurch ging, verschlossen werden. Es wurde soviel Leinoel in dieses Gefäss gegossen, dass es in mässig dicker Schicht den Boden desselben bedeckte. Nachdem sodann der Deckel luftdicht aufgesetzt worden war, wurde $^1/_2$ Stunde lang Sauerstoff hindurch geleitet, um alle atmosphärische Luft auszutreiben und die Schale selbst zur Beschleunigung der Oxydation mit Sauerstoff zu füllen. Jetzt wurden die Hähne geschlossen und das Glasgefäss blieb nun einige Tage unberührt stehen. Nach kurzer Zeit zeigte sich die Oberfläche des Leinoels blasig aufgetrieben. In der Schale hatte sich ein starker negativer Druck entwickelt, ein Beweis, wie lebhaft die Einwirkung des Sauerstoffes auf das Leinoel gewesen war. Zur Untersuchung der bei dieser künstlich herbeigeführten Oxydation entstandenen chemischen Verbindungen wurden bei dem einen Versuche die entstandenen Gase mit Hülfe des Sauerstoffes ausgetrieben und in vorgelegten Geissler'schen Kaliapparaten aufgefangen, von denen der eine mit Barytwasser gefüllt wurde, das sich alsbald trübte, also so die Entwickelung von Kohlensäure nachwies, während ein zweiter Fuchsin-Schwefligsäurelösung enthielt, die nach kurzem Hindurchleiten sich violett färbte, und so also auch der Nachweis der Aldehyde erbracht wurde, der dann auch noch mit Hülfe von Phenylhydrazin, bei dessen Zusatz eine milchige Trübung eintrat, eine weitere Bestätigung erhielt.

Bei einem zweiten Versuche (Nr. XIV) wurde nach dem Durchleiten des Sauerstoffes und nach Herbeiführung der künstlichen Oxydation das in der Schale vorhanden gewesene Leinoel im strömenden Wasserdampfe der Destillation unterworfen und das erhaltene Destillat dann weiter untersucht. Es ergab sich wiederum, dass Aldehyde reichlich gebildet worden waren, und zwar war, wie sich die Reaction mit Phenylhydrazinchlorhydrat nach Ferdinand Jean[1] nachweisen liess,

[1] Ferdinand Jean, Nachweis des Formaldehyds in Nahrungsmitteln. *Annal. chim.-anal.* 1899. 4. S. 41—42.



Acetaldehyd in ziemlich reichlicher Menge vorhanden. Ferner fanden sich Acrolein, das sich schon durch seinen Geruch kennzeichnete, und auch, wie die Reaction von Rimini[1] mit Phenylhydrazinchloridlösung und Eisenchlorid und weiter die mittels Phloroglucin[2] ergaben, Spuren von Formaldehyd. Doch sprach die gleichzeitig durch Quecksilberchloridlösung nachgewiesene, nicht unerhebliche Menge von Ameisensäure dafür, dass wohl schon bei Vornahme der oben angegebenen chemischen Prüfungen ein erheblicher Theil des gebildeten Formaldehyds in Ameisensäure übergeführt worden war.

Nach dem Vorausgegangenen unterliegt es wohl keinem Zweifel, dass die hervorragende desinficirende Wirkung der beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097 B und Pef. 2098 B in erster Linie diesen soeben des Näheren betrachteten flüchtigen chemischen Substanzen zuzuschreiben ist, die sich beim Trocknen derselben aus dem bei ihnen als Bindemittel benutzten gekochten Leinoel bilden, während bei den anderen Porzellanemaillefarben Pef. 2092 und Pef. 2093, bei denen das Leinoel nur ein ganz geringer Bestandtheil des Bindemittels ist, dieses in der Hauptsache vielmehr aus Terpentinoel besteht, die Entwickelung derartiger chemischer Substanzen in wirksamer Menge nicht vor sich geht. Wir sehen ferner, dass das unter dem Einfluss des Sauerstoffes der Luft bei den letztgenannten Farben ohne Zweifel sich bildende Ozon in seiner desinficirenden Wirkung hinter den genannten anderen gasförmigen chemischen Stoffen, der Kohlensäure, den Aldehyden und den flüchtigen Fettsäuren, zurücktritt.

Bei den bisher angeführten Versuchen ist nun gerade die für die Praxis wichtigste Frage unberücksichtigt und unbeantwortet geblieben, nämlich die, wie lange die desinficirende Wirkung derartiger Farbenanstriche anhält? Ein endgültiges Urtheil vermag ich zwar über diesen so wichtigen Punkt noch nicht abzugeben, doch geht aus den bisherigen Versuchen, die dazu dienen sollten, hier Aufklärung zu schaffen, so viel bereits hervor, dass, wenn die Platten nach $5^{1}/_{2}$ und 10 Wochen langem Trocknen mit Bouilloncultur des Staphylococcus aureus, also eines gegen äussere schädigende Einflüsse ziemlich widerstandsfähigen Mikroorganismus, inficirt werden, noch eine sehr deutliche, wenn auch etwas verzögerte desinficirende Wirkung der beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097B. und Pef. 2098B. und der beiden Oelfarben festzustellen ist.

---

[1] Rimini, Ueber den Nachweis von Formaldehyd in Nahrungsmitteln. *Annal. di Farmacol.* 1898. p. 100.

[2] Vanino, Ueber den Nachweis von Formaldehyd mittels Phloroglucin. *Pharm. Centralhalle.* 1899. Nr. 40. S, 101—102.



Versuch XV.

5½ Woche nach dem Streichen der Thonplatten.

Versuchsanordnung dieselbe, wie bei den früheren Versuchen. Die inficirten Farbenplatten wurden bei Licht in Zimmertemperatur aufbewahrt.

Abgeimpft nach der Inficirung:		*a* 4 Std.		*b* 8 Std.		*c* 12 Stunden				*d* 24 Stunden						*e* 48 Stunden					*f* 3 Tage				
Wachsthum bei 37° nach:		8 Stunden	24 Stunden	4 Stunden	18 Stunden	12 Stunden	24 Stunden	2 Tagen	3 Tagen	8 Stunden	24 Stunden	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen	1 Tagen	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen	1 Tagen	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen
Pef. 2097 B. . .	Bouillon	—	+	—	+	+				—	+					—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	+	—	+	—	+			—	—	—	+			—	—	v.			—	—	—	—	—
Pef. 2098 B. . .	Bouillon	—	+	—	+	+				—	—	+				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	+	—	+	—	+			—	—	—	+			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pef. 2092 . . .	Bouillon	—	+	—	+	+				+						+					—	—	+		
	Agar	+		—	+	+				—	+					+					—	—	—	+	
Pef. 2093 . . .	Bouillon	+		—	+	+				+						+					+				
	Agar	+		—	+	+				+						+					+				
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	—	+	—	+	—	+			—	—	—	+			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	+	—	+	—	—	+		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zinkweissoelfarbe.	Bouillon	—	+	—	+	—	+			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Agar	—	+	—	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zoncafarbe . . .	Bouillon	+		—	+	+				+						+					—	—	—	—	—
	Agar	—	+	—	+	+				—	+					+					—	—	—	—	—
Amphibolinfarbe .	Bouillon	+		—	+	+				+						+					+				
	Agar	+		—	+	+				+						+					+				
Hyperolinfarbe. .	Bouillon	+		—	+	+				+						+					+				
	Agar	+		—	+	+				+						+					+				
Leimfarbe . . .	Bouillon	+		—	+	+				+						+					+				
	Agar	+		—	+	+				+						+					+				



g) Nach 5 Tagen wird von der Porzellanemaillefarbe Pef. 2092-, von der Pef. 2093-, der Amphibolin-, Hyperolin- und der Leimfarbenplatte in Bouillon und auf Agar geimpft. Die mit Material von Porzellanemaillefarbe Pef. 2092 beschickten Röhrchen bleiben bei zehntägigem Aufenthalt im Brütschrank steril, auf den übrigen lässt sich überall noch Wachsthum feststellen.

h) Nach 10 Tagen werden wieder von sämmtlichen Platten Bouillon- und Agarculturen angelegt. Wachsthum findet sich nur in den mit der Porzellanemaillefarbe Pef. 2093-, mit der Amphibolin-, der Hyperolin- und der Leimfarbenplatte geimpften Röhrchen.

Aus Versuch XV ersehen wir also:

1) Dass auch nach $5^1/_2$ Woche lang dauerndem Trocknen die beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097B und Pef. 2098B, ebenso die beiden Oelfarben ihre desinficirende Kraft in fast uneingeschränkter Vollkommenheit sich erhalten haben: 48 Stunden nach der Inficirung tritt eine ausgesprochene desinficirende Wirkung der genannten Farben ein, die bei dem ersten Versuch mit dem Staphylococcus aureus nach 8 bezw. 12 Stunden festgestellt werden konnte (vgl. S. 88 u. 89), also nur eine mässige Verzögerung;

2. dass, während das erste Mal (Seite 90) die von der Zoncafarbenplatte abgeimpften Röhrchen nach 24 Stunden steril bleiben, jetzt nach 3 Tagen kein Wachsthum mehr festzustellen ist;

3. dass auf den von der Porzellanemaillefarbe Pef. 2092-Platte angelegten Röhrchen Wachsthum erst in denen, die 5 Tage nach der Inficirung beimpft werden, dauernd ausbleibt, in Versuch III (Seite 91) hingegen diese Wirkung nach 48 Stunden erreicht wird; und

4. dass auf den von der Porzellanemaillefarbe Pef. 2093-, von der Amphibolin-, Hyperolin- und von der Leimfarbenplatte angelegten Bouillon- und Agarröhrchen auch nach 10 Tagen noch deutliches Wachsthum statthat.

Mit diesem für die beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097B und Pef. 2098B und auch die Oelfarben so sehr günstigen Ergebniss stimmt auch dasjenige des Versuchs XVI, der 10 Wochen nach dem Bestreichen der Platten angestellt wurde, fast vollkommen überein. Auch in diesem Versuch wurde zur Inficirung genau in derselben Weise wie bei den vorhergehenden, Bouilloncultur des Staphylococcus aureus verwandt, als Untergrund für die einzelnen Anstriche dienten Thonplatten. Die ganze Anordnung war dieselbe wie bisher.



Versuch XVI.

Abgeimpft nach der Inficirung:		a 24 Stunden				b 48 Stunden					c 3 Tage					d 5 Tage			
Wachsthum bei 37° nach:		14 Std.	1 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	1 Tagen	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen	1 Tagen	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	10 Tagen	1 Tagen	2 Tagen	5 Tagen	10 Tagen
Pef. 2097 B. . . .	Bouillon	–	–	+		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Pef. 2098 B. . . .	Bouillon	–	–	+		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	+		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Pef. 2092	Bouillon	+				+					–	–	+			–	–	–	–
	Agar	–	+			–	+				–	–	–	+		–	–	–	–
Pef. 2093	Bouillon	+				+					+					+			
	Agar	+				+					+					+			
Bleiweissoelfarbe .	Bouillon	–	–	+		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Zinkweissoelfarbe .	Bouillon	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Zoncafarbe. . . .	Bouillon	+				–	–	+			–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Agar	–	+			–	–	–	+		–	–	–	–	–	–	–	–	–
Amphibolinfarbe .	Bouillon	+				+					+					+			
	Agar	+				+					+					+			
Hyperolinfarbe . .	Bouillon	+				+					+					+			
	Agar	+				+					+					+			
Leimfarbe	Bouillon	+				+					+					+			
	Agar	+				+					+					+			

e) Das Ergebniss der am 10. Tage nach der Inficirung vorgenommenen Impfung der Agar- und Bouillonröhrchen ist das gleiche wie das unter *d* wiedergegebene.

Versuch XV und XVI stimmen also, wie aus den beiden letzten Tabellen hervorgeht, in ihren Ergebnissen im Wesentlichen soweit überein, dass die Resultate des Versuches XVI nicht ausführlich wiedergegeben zu werden brauchen, betont soll aber noch ein Mal werden, dass die beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097B und Pef. 2098B und die beiden Oelfarben selbst nach 10 Wochen langem Trocknen noch eine sichere desinficirende Wirkung ausüben, die sich auch, wie ich zur Erhärtung dieser Behauptung hinzufügen kann, bei einer Wiederholung des letzten Versuchs Nr. XVI in genau derselben Stärke hat feststellen lassen. Weitere Untersuchungen, um über die Grenze der Dauer des Bestehens der desinficirenden Kraft der genannten Farben Aufschluss zu erlangen, sind noch nicht abgeschlossen.[1] Immerhin aber ist der bisherige Befund, wenn er auch noch nicht allen aus der Praxis sich ergebenden Wünschen entspricht, doch von gewiss nicht gering anzuschlagender Bedeutung!

Zur Bestätigung und in gewissem Sinne auch zur Erklärung der in unseren Versuchen gefundenen langdauernden desinficirenden Kraft der Porzellanemaillefarben Pef. 2097B und Pef. 2098B und der beiden Oelfarben, die ja, wie oben des Näheren ausgeführt, auf den beim Trocknen ihres Bindemittels, des Leinoelfirniss sich bildenden gasförmigen, chemischen Substanzen beruht, können wir auch andere in der Litteratur mitgetheilte Beobachtungen heranziehen. So führt z. B. Weger in einer Abhandlung „Ueber die Sauerstoffaufnahme der Oele und Harze“[2] hinsichtlich des Leinoels an, dass das Maximum der Sauerstoffaufnahme $^1/_2$ bis 1 Tag nach dem „Trockensein“, d. h. nach dem Zeitpunkt eintrete, wo der Finger bei leichtem Druck nicht mehr am Häutchen haftet, dass aber nach dem „Harttrocknen“ des Anstriches, d. h. derselbe hält einen starken Druck mit dem Finger aus, die Sauerstoffaufnahme geringer, die Abgabe flüchtiger Stoffe grösser werde. Allerdings finden sich weitere genauere Angaben über den Eintritt und die Dauer dieses Zustandes nicht, so dass es wohl auch hier noch aufklärender Untersuchungen bedarf.

Wir haben also nach den bisher gegebenen Ausführungen die beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097B und Pef. 2098B und die Oel-

[1] Bemerkung bei der Correctur: Ein inzwischen angestellter Versuch zeigt, dass auch 4 Monate nach dem Bestreichen der Platten die eben genannten Farben noch eine nicht unerhebliche, nach 4 bezw. 5 Tagen nach der Inficirung sich äussernde keimtödtende Wirkung auszuüben vermögen.

[2] *Chem. Revue für Fett- und Harzindustrie.* 1898. Nr. 5. S. 213—222.

farben als ganz besonders brauchbare desinficirende Anstrichfarben kennen gelernt, die durch ihre hervorragende keimtödtende Eigenschaft alle anderen mitgeprüften Fabrikate bei Weitem übertreffen. Nun besitzen die beiden erstgenannten Farben noch weitere, bei der Beurtheilung einer Anstrichfarbe wesentlich mit in Betracht kommende Vorzüge, durch die sie auch den Oelfarben noch bedeutend überlegen sind, deren desinficirende Wirkung ja der ihrigen im Grossen und Ganzen gleichsteht. Soweit dieselben mir bei meinen Versuchen entgegengetreten sind, will ich sie nicht unerwähnt lassen. Es gehören hierher vor allem die Glätte ihres Anstriches, ihre leichte Streichbarkeit und ihre grosse, den Farbenverbrauch erheblich herabsetzende Deckkraft. Ferner vertragen die Anstriche mit den beiden genannten Porzellanemaillefarben die Einwirkung unserer gewöhnlichen Desinfectionsmittel, und zwar Abwaschungen mit Carbol- und Sublimatlösungen der verschiedensten Stärke, ja sie bleiben auch unverändert, wenn man die mit den beiden Farben gestrichenen Platten tagelang in den genannten Lösungen liegen lässt, sie überstehen ebenso die Anwendung des Formalins in Dampfform, ohne dabei irgendwie im Aussehen, im Farbenton verändert oder gar sonst irgendwie geschädigt zu werden. Es kann hier der Einwand erhoben werden, dass diese letzterwähnte gute Eigenschaft bei den beiden in Rede stehenden Farben gar nicht mit in Betracht käme, da sie ja selbst im Stande seien, etwa auf die mit ihnen hergestellten Anstriche gelangende pathogene Keime fast sofort oder wenigstens nach kurzer Frist abzutödten. Wenn dem auch so ist, so gilt dieser Satz doch nicht ohne jede Ausnahme. Wie uns der Versuch IV (Seite 92 bis 95) lehrt, werden so widerstandsfähige Organismen, wie die Sporen des Milzbranderregers, von denselben erst nach 30 tägiger Einwirkung geschädigt. Da wir nun von einigen, nicht selten auftretenden Infectionskrankheiten, z. B. vom Scharlachfieber, den Erreger nicht kennen, so wird man besonders bei einem derartigen Krankheitsfalle, aber auch sonst, schon um sicher zu gehen, keineswegs von einer gründlichen Desinfection Abstand nehmen dürfen. Damit ist nun aber die Nothwendigkeit eines desinficirenden Wandanstriches durchaus nicht aufgehoben, dieselbe besteht vielmehr in vollem Umfange fort. Wird doch durch einen solchen z. B. in Krankenräumen erreicht, dass die auf die Wände gelangenden Keime fast sofort, während der Kranke sich noch in dem betreffenden Zimmer befindet, also zu einer Zeit, wo für gewöhnlich noch keine Desinfection der Wände vorgenommen wird, abgetödtet und so verhindert werden, weitere Infectionen herbeizuführen. Aber auch in Räumen, die für gewöhnlich nicht dem Aufenthalte von Kranken dienen, wie z. B. in Versammlungssälen, Schulen, Kasernen u. s. w. und auch in unseren Wohnungen, und



zwar besonders in unseren Schlafstuben, ist es von nicht zu unterschätzender praktischer Bedeutung, wenn die Wände mit einem Anstrich versehen sind, der vermöge seiner desinficirenden Eigenschaften im Stande ist, pathogene Bakterien abzutödten, zumal in derartigen Räumlichkeiten in der Regel Desinfectionen der Wände erst dann vorgenommen zu werden pflegen, wenn nachweislich mehrere Erkrankungen in denselben vorgekommen sind. Hierzu kommt noch der die Anwendung dieser Farben in der Praxis in der Hauptsache bedingende und sie begünstigende Umstand, dass die desinficirende Eigenschaft eines derartigen Anstriches nicht etwa schnell vorübergeht, sondern, wie unsere bisherigen Versuche gezeigt haben, eine Reihe von Wochen in fast ungeschwächter Kraft anhält und auch, wie andere Beobachtungen entnehmen lassen, diese bei den bisherigen Versuchen gefundene Zeit noch zu überdauern scheint.

Wir können darum wohl auf Grund der gegebenen Ausführungen die berechtigte Hoffnung aussprechen, dass wir damit, dass es der Technik gelungen ist, derartige desinficirende Anstrichfarben herzustellen, wie die beiden Porzellanemaillefarben Pef. 2097B und Pef. 2098B es sind, einen wesentlichen Fortschritt in der Kranken- haus- und Wohnungshygiene zu verzeichnen und ein neues Hilfsmittel in der Bekämpfung der Infectionskrankheiten gewonnen haben.

Eine angenehme Pflicht ist es mir, Hrn. Professor C. Fraenkel für die Anregung zu dieser Arbeit und für das liebenswürdige Interesse, das er meinen Untersuchungen stets entgegengebracht hat, auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten und ergebensten Dank auszusprechen.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität München.]

Ueber die Ursache der baktericiden Serumwirkung.

Von

A. Hegeler.

Bezüglich der baktericiden Wirkung des normalen Blutserums ist durch Baumgarten und Walz wiederholt die Anschauung zum Ausdruck gebracht worden, dass es sich dabei nicht um Alexine oder ähnliche Stoffe handeln könne. Neuestens ist auch A. Fischer[1] der Meinung jener Autoren beigetreten und formulirt den früher gebrauchten Ausdruck vom „Wechsel des Nährmediums" jetzt präciser dahin, dass die baktericide Serumwirkung durch plasmolysirenden Einfluss der Mineralsalze, bei gleichzeitigem Hungerzustand erklärt werden müsse.[2]

Da es leicht ist, diese Hypothese experimentell zu prüfen, so folgte ich gerne einer Aufforderung des Hrn. Prof. Buchner und stellte die folgenden Versuche an, welche, wie ich glaube, eine klare Antwort auf die gestellte Frage geben.

Wenn Plasmolyse durch die Serumsalze, in Verbindung mit Nahrungsmangel die Bakterien zum Untergang bringen soll, dann müssen bei Vermeidung dieser beiden Einflüsse die baktericiden Wirkungen des Serums aufgehoben sein. Die eine der beiden genannten Bedingungen hat neuerdings Trommsdorff[3] in seinen Versuchen verwirklicht, indem er zeigte, dass 4 Mal in inactivirtem Kaninchenserum vorgezüchtete Cholera- und Typhusbakterien dennoch beim Uebertragen in actives Kaninchenserum gerade

[1] A. Fischer, Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle u. das baktericide Serum. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXV. S. 1.

[2] A. a. O. S. 48.

[3] R. Trommsdorff, Ueber Gewöhnung von Bakterien an Alexine. *Archiv für Hygiene.* Bd. XXXIX. S. 31.



so abgetödtet werden, als ob die vorgängige Cultivirung in irgend einem künstlichen Substrat stattgefunden hätte. Plasmolytische Wirkungen waren hier, beim Uebergang von Serum zu Serum, ersichtlich ausgeschlossen. Es blieb aber die Möglichkeit, dass der Nahrungsmangel allein im frischen activen Serum die Bakterien getödtet haben könnte.

Um beide Punkte gleichzeitig zu berücksichtigen, wurde nun in folgender Weise verfahren. Die Bakterien wurden zuerst in inactivirtes Serum ausgesät und hier kurze Zeit wachsen gelassen. Dann wurden sie nicht, wie gewöhnlich, aus diesem Medium herausgenommen und in actives Serum übertragen, sondern es wurde umgekehrt actives Serum zu der schon vorhandenen Bakteriencultur zugesetzt, und nun das Verhalten der Keime constatirt. Bei diesem Zusatz von activem Serum zu den bereits im Serum cultivirten Bakterien war

1. jede plasmolytische Wirkung ausgeschlossen,

2. ebenso auch der Nahrungsmangel; es fand nur, je nach dem Zusatzverhältniss, eine 2 bis 4fache Verdünnung der im inactivirten Serum auch nach Baumgarten, Walz und A. Fischer vorhandenen organischen Nahrungsstoffe statt, bei gleichem Salzgehalt. Blosse 2 bis 4fache Verdünnung der organischen Nährstoffe kann aber, wie jeder Bakteriologe aus Erfahrung weiss, nicht ein sofortiges massenhaftes Absterben der Keime, sondern nur eine langsamere Vermehrung, höchstens vielleicht zunächst ein Stehenbleiben der Keimzahl zur Folge haben.

Zu den Versuchen diente der Typhusbacillus, weil dieser nach A. Fischer für plasmolytische Wirkungen sehr geeignet ist.

I. Versuch.

Aussaat: Filtrirte Bouilloncultur von Typhusbacillen, 37°.

Inhalt der Röhrchen	Colonieenzahl[1]					
	Aussaat	nach 2 Std.	Zusatz von act. Kaninchen-Serum	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 24 Std.
a } je 1 ccm inactives Kaninchenserum	1856	2688	+ 0 ccm	19 584	∞	∞
a_1 }	2112	2432	„	12 464	∞	∞
b } je 1 ccm inactives Kaninchenserum	2120	3168	+ 1 ccm	26	4	42 600
b_1 }	2208	2684	„	10	4	5 248
c } je 1 ccm inactives Kaninchenserum	2080	3648	+ 2 ccm	15	0	31 488
c_1 }	1792	2656	„	6	0	4 736
d } je 1 ccm inactives Kaninchenserum	1472	2716	+ 3 ccm	12	8	780
d_1 }	2176	3424	„	52	6	216 576

[1] Die Zahlen bedeuten den Keimgehalt von 1 Normalplatinöse pro 1 ccm Flüssigkeit. Diese Bemerkung ist erforderlich, weil die Gesammtvolumina der Proben bb_1, cc_1 und dd_1 durch den Serumzusatz sich vergrössert hatten.



Dieser Versuch spricht nicht für die Theorie vom Nahrungsmangel, da der rapide Keimabfall besonders in *b* und b_1 wo die organischen Nahrungsstoffe des inactiven Serums nur auf's Doppelte verdünnt wurden, unmöglich in dieser Weise erklärt werden kann.

II. Versuch.

Aussaat: Filtrirte Bouilloncultur von Typhusbacillen, 37°.

Inhalt der Röhrchen		Colonieenzahl					
		Aussaat	nach $2^1/_2$ Std.	Zusatz von	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 24 Std.
a	je 2 ccm inactives	1122	1496	0 ccm	5 640	39 000	∞
a_1	Hundeserum	986	1480	0 „	8 160	85 000	∞
b	je 1 ccm inactives	1292	2410	1 ccm act.	310	670	8000
b_1	Hundeserum	2278	2650	Hundeserum	370	534	7718
c	je 1 ccm inactives	1598	3970	1 ccm 1 procent.	17 100	90 000	∞
c_1	Hundeserum	1836	4590	NaCl-Lösung	29 300	80 000	∞
d	je 0·5 ccm inactives	2308	7310	1·5 ccm act.	230	260	8320
d_1	Hundeserum	2176	4650	Hundeserum	136	157	6590
e	0·5 ccm inactives	2108	6800	1·5 ccm 1 proc.	9 450	47 530	∞
e_1	Hundeserum	4760	10060	NaCl-Lösung	15 000	120 000	∞

In diesem Versuch wurde den Proben bb_1 und dd_1 nach Ablauf von $2^1/_2$ Stunden actives Hundeserum, den Proben cc_1 und ee_1 aber 1 procentige Kochsalzlösung zugesetzt. Letztere steht im Salzgehalt dem Serum mindestens gleich und enthält zugleich keine organischen Nahrungsstoffe.

Nach Baumgarten, Walz und A. Fischer hätte daher in den letzteren Proben eine ähnliche Keimverminderung eintreten müssen, wie in den mit activem Hundeserum versetzten, was aber nicht der Fall war. Beim folgenden Versuch III wurden die sämmtlichen Proben im Brütschrank mittels eines Mechanismus in ständiger Bewegung erhalten; dieselbe bestand in fortwährendem Aufrichten und Wiederniederlegen der Röhrchen, bis fast zur Horizontalen, und hatte den Zweck, das Sedimentiren der Bakterien zu verhindern und die Serumwirkung dadurch schärfer hervortreten zu lassen, was in der That gelang.

In Probe *d* wurde bei folgendem Versuch III nach 24 Stunden vollständige Abtödtung aller Keime erzielt, und zwar wurde dieses Resultat durch mehrfache Aussaaten aus dem Röhrchen *d* in schwach alkalische Peptonbouillon bei 37°, die sämmtlich negativ blieben, bestätigt. Der Versuch zeigt einen sehr grossen Unterschied in der Wirkung von blosser Kochsalzlösung gegenüber activem Serum.



III. Versuch.
Aussaat: Filtrirte Bouilloncultur von Typhusbacillen.
Versuch mit dem Bewegungsapparat ausgeführt, 37°.

	Inhalt der Röhrchenen	Colonieenzahl					
		Aussaat	nach 2 Std.	Zusatz von	nach 5 Std.	nach 6½ Std.	nach 24 Std.
a	je 2 ccm inactives	1984	2400	0 ccm	9 210	16 000	86 000
a^1	Hundeserum	1568	1880	0 „	10 300	18 400	80 000
b	je 1 ccm inactves	2400	2700	1 ccm act.	3	3	860
b_1	Hundeserum	1952	2650	Hundeserum	2	6	680
c	je 1 ccm inactives	2048	2600	1 ccm 1 proc.	15 550	23 000	33 900
c_1	Hundeserum	2464	2840	NaCl-Lösung	17 200	27 000	90 700
d	je 0·5 ccm inactives	2400	3710	1·5 ccm act.	0	3	0
d_1	Hundeserum	3072	4760	Hundeserum	4	7	90
e	je 0·5 ccm inactives	3648	4380	1·5 ccm 1 proc.	13 200	18 400	23 600
e^1	Hundeserum	3168	3520	NaCl-Lösung	13 800	14 000	28 800

Dass eine fortgesetzte Bewegung der Versuchsröhren den Erfolg haben kann, die Wirkungen des Serums zur vollen Geltung kommen zu lassen, ist durch die Ueberlegung ohne Weiteres klar. Denn häufig wird das Serum gegen Bakterien, die in dichteren Massen am Boden abgelagert sind, mit denen es also nur ungenügend in Contact kommt, seine volle Wirkung nicht üben können. Andererseits ist zu bedenken, dass die Bewegung der Flüssigkeit eine erleichterte Sauerstoffabsorption zur Folge hat, was umgekehrt den Typhusbacillen direct zu statten kommt. Die Verhältnisse sind also für die Bakterien und für das Serum bei der Bewegung günstiger, weshalb die Resultate um so richtiger und schärfer hervortreten müssen.

Die experimentelle Bestätigung hierfür liefert der folgende Versuch IV, bei welchem die Hälfte der Proben in Ruhe, die andere in Bewegung, übrigens im gleichen Brütschrank gehalten wurden.

Der Verlauf der Keimzahlen in den analogen Proben cc_1 (Bewegung) gegen ff_1 (Ruhe) ist wesentlich verschieden und beweist, dass **genauere Resultate mit fortgesetzter Bewegung der Proben erhalten werden können.** In Probe c_1 war nach 24 Stunden **vollständige Keimvernichtung erzielt**, was durch wiederholte negativ gebliebene Aussaaten in Peptonbouillon bestätigt wurde.

Auffallen muss in folgendem Versuch IV noch die Keimabnahme in den Proben aa_1 nach 1½, 4 und 6 Stunden, obwohl nur **inactivirtes** Serum mit den Typhusbakterien in Berührung kam. Es ergiebt sich hieraus, in Uebereinstimmung mit anderen ähnlichen Erfahrungen, dass Hundeserum trotz der Inactivirung — hier 2½ Stunden bei 55° — doch noch bakterien-



feindliche Stoffe enthalten kann, die vielleicht mit den von Ehrlich für die hämolytische Wirkung des Serums constatirten „Zwischenkörpern", die auch im Buchner'schen Laboratorium beobachtet wurden, in Analogie gesetzt werden dürfen. Für die Beurtheilung der hier geprüften Fragen haben diese Erscheinungen keine unmittelbare Bedeutung.

IV. Versuch.

Aussaat: Filtrirte Emulsion einer Typhus-Bouilloncultur, 37°.

	Inhalt der Röhrchen	Colonieenzahl					
		Aussaat	nach 1½ Std.	Zusatz von	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 24 Std.
	Im Bewegungsapparat:						
a	je 0·5 ccm inactives	3712	1790	2 ccm inactives	641	744	∞
a_1	Hundeserum	4220	2430	Hundeserum	760	1 376	∞
b	desgl.	3930	1440	2 ccm 1 procent.	9 880	65 000	∞
b_1		4120	1500	NaCl-Lösung	21 312	85 000	∞
c	desgl.	4160	1720	2 ccm act.	6	0	136
c_1		3070	1340	Hundeserum	6	3	0
	In Ruhe:						
d	desgl.	3390	4060	2 ccm inactives	3 230	38 000	∞
d_1		2970	3680	Hundeserum	2 816	7 500	∞
e	desgl.	3260	2752	2 ccm 1 procent.	8 250	18 000	∞
e_1		3450	2360	NaCl-Lösung	11 520	53 560	∞
f	desgl.	4480	3130	2 ccm act.	67	45	184 000
f_1		3104	3320	Hundeserum	53	18	84 600

Aus den mitgetheilten Versuchen lassen sich folgende Schlüsse ableiten:

1. Die Annahme, wonach die Ursache der baktericiden Serumwirkung in plasmolytischen Vorgängen und Mangel an Nahrungsstoffen begründet sein soll, ist experimentell nicht haltbar.

2. Vielmehr müssen im activen Serum bestimmte, direct bakterienfeindliche Stoffe vorhanden sein, welche seit 1891 als „Alexine" bezeichnet werden.

3. Um die baktericiden Wirkungen in einer Serumprobe zum vollen Ausdruck gelangen zu lassen, ist die fortgesetzte Bewegung der Proben im Brütschrank, welche ein Sedimentiren der Keime unmöglich macht, zu empfehlen.

Schliesslich sei bemerkt, dass die einzelnen Proben während der Versuche stets mikroskopisch auf etwaige Agglutination untersucht wurden. Das Resultat ist, dass die gefundenen Verminderungen der Colonieenzahlen keineswegs auf diese Weise erklärt werden können.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Breslau.]

Zur Frage der Immunstoffe des Organismus.

Von

Dr. **J. Klimoff,**
Privatdocenten (Kazan).

Die von v. Fodor, Nuttall, Nissen bewiesene baktericide oder bakterienvernichtende Eigenschaft des normalen Blutserums und der anderen Körpersäfte beruht nach Buchner's Ansicht auf den im thierischen Organismus vorhandenen besonderen Abwehrstoffen (Alexinen), deren Anwesenheit die angeborene Immunität bewirkt. Diesen Stoffen stehen andere sehr nahe, welche nur specifische Wirkung gegen gewisse Bakterien besitzen; sie sind es, welche die natürlich erworbene oder künstlich hervorgerufene Immunität bedingen, wobei das Blut meistens bakteriolytische (R. Pfeiffer) und agglutinirende (M. Gruber, Durham) Eigenschaften bekommt. Das ist im Kurzen die Ansicht, die derzeit in der Litteratur über Ursachen der Immunität und Immunisirung herrscht. — Was aber die Natur der Abwehrstoffe, deren Entstehung im Organismus und gewisse Beziehungen zwischen diesen Stoffen und der bakteriolytischen und agglutinirenden Eigenschaft des Blutes anbetrifft, so sind die Meinungen der Autoren nicht einig.

Zunächst wird von Baumgarten[1] und seinen Schülern das Vorhandensein besonderer Abwehrstoffe bei immunen oder immunisirten Organismen überhaupt bestritten und die denselben zugeschriebene Wirkung durch die „Assimilationstheorie“ erklärt. Nach dieser beruht die Verminderung bezw. Abtödtung lebend in das Serum eingebrachter und dann,

[1] Beiträge zur Lehre von der natürlichen Immunität. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 11.



zwecks Prüfung seiner Wirksamkeit, auf andere Nährböden übertragener Bakterien hauptsächlich auf Störungen der Assimilationsvorgänge und der Osmose in der Bakterienzelle auf dem neuen Nährsubtrat, der Gelatine oder dem Agar „mit ihrem geringeren Salzgehalt". So wird die bekannte Thatsache, dass das Kaninchenserum in frischem Zustande gegen Milzbrand- und Typhusbacillen baktericid wirkt, nach Erhitzung auf 55 bis 60° C. aber unwirksam („inactiv") wird, nicht als die Vernichtung besonderer, bei dieser Temperatur zerstörbarer Stoffe aufgefasst, sondern lediglich damit erklärt, dass das durch die Erhitzung erstarrte Blutserum, wahrscheinlich durch Peptonbildung, einen besseren Nährboden als das flüssige darstellt, in dem sich in Folge Nahrungsmangels verhängnissvolle plasmolytische Vorgänge an den Bakterienzellen abspielen. Durch Zusatz von Pepton und Traubenzucker könne jedoch der Unterschied vollständig ausgeglichen werden.

In Wiederholung dieser Versuche habe ich die Variabilität des Salzgehaltes und der sonstigen Zusammensetzung des Nährbodens zu umgehen und damit der Plasmolysirung durch Züchtung der Bakterien auf verschiedenen Nährsubstraten vorzubeugen gesucht und unsere Versuche von Anfang bis zu Ende auf Serum durchgeführt. Zuerst wurden die betreffenden Bakterien — Milzbrand 6 Stunden (um nur junge sporenlose Cultur zu verwenden) und Typhusbacillen 24 Stunden — auf Löffler'schem Serum gezüchtet. Von solchen Culturen wurde vor dem Versuche eine Aufschwemmung in inactivirtem Kaninchenserum mit Zusatz von $^1/_2$ Procent Pepton gemacht, und von dieser Aufschwemmung zwei oder zehn Oesen in Reagensgläser gebracht, welche je 4 ^{ccm} theils frisches, actives Serum mit oder ohne Zusatz von $^1/_2$ Procent Pepton, theils durch $1^1/_4$ stündiges Erhitzen auf 56° C. inactivirtes Serum mit oder ohne denselben Zusatz enthielten. Zwecks Feststellung der Zahl der so übertragenen Keime wurde nun zunächst aus jedem Reagensglas 1 Oese der Flüssigkeit herausgenommen und auf der ganzen Oberfläche von, in einer Petrischale erstarrtem Löffler'schen Serum gut ausgestrichen, manchmal auch mit derselben Menge eine Gelatineplatte gegossen. Dann wurden die Serumröhrchen im Brütschrank bei 37° C. aufbewahrt und nach 4 Stunden in der eben beschriebenen Weise wiederum Serum- und Gelatineplatten angelegt.

Die Zahl der ausgewachsenen Colonieen auf der Serumplatte konnte man schon am nächsten Morgen feststellen. Die Colonieen lagen auf der ganzen Oberfläche gleichmässig vertheilt und erlaubten, wenn die Zahl nicht zu gross war (bis 413), eine makroskopische Zählung.

Die Resultate unserer Versuche ersieht man aus Tabelle I.



Tabelle I. **Serum-Versuche mit Milzbrandbacillen.**

Zeit	Was für Zählplatte wurde gebraucht	Activ		Inactiv		Activ + Pepton		Inactiv + Pepton	
		2 Oesen	10 Oesen	2 Oesen	10 Oesen	2 Oesen	10 Oesen	2 Oesen	10 Oesen
Sofort nach Aussaat . . .	Serum	6	413	viel	sehr viel	20	171	viel	sehr viel
4 Std. „ „ . . .	„	0	0	219	„ „	0	4	sehr viel	„ „
Sofort „ „ . . .	Gelatine	5	107	120	760	5	122	1911	6497
4 Std. „ „ . . .	„	0	0	299	2997	0	0	7258	sehr viel
Resultate		Tödtung	Tödtung	Vermehrg.	Vermehrg.	Tödtung	fast Tödtg.	Vermehrg.	Vermehrg.
Sofort nach Aussaat . . .	Serum	12	viel	—	—	9	viel	—	—
4 Std. „ „ . . .	„	0	0	—	—	0	27	—	—
Resultate		Tödtung	Tödtung	—	—	Tödtung	Abnahme	—	—
Sofort nach Aussaat . . .	Serum	viel	sehr viel	viel	sehr viel	viel	sehr viel	viel	sehr viel
4 Std. „ „ . . .	„	1	viel	sehr viel	„ „	0	viel	sehr viel	„ „
Resultate		fast Tödtung	deutliche Abnahme	kein Unterschied	kein Unterschied	Tödtung	Abnahme	kein Unterschied	kein Unterschied
Sofort nach Aussaat . . .	Serum	186	—	162	—	—	—	—	—
4 Std. „ „ . . .	„	0	—	viel	—	—	—	—	—
Sofort nach Aussaat . . .	Gelatine	70	—	142	—	—	—	—	—
4 Std. „ „ . . .	„	0	—	201	—	—	—	—	—
Resultate		Tödtung	—	Vermehrg.	—	—	—	—	—

Serum-Versuch mit Typhusbacillen.

Zeit	Was für Zählplatte wurde gebraucht	Activ 2 Oesen	Activ 10 Oesen	Inactiv 2 Oesen	Inactiv 10 Oesen	Activ + Pepton 2 Oesen	Activ + Pepton 10 Oesen	Inactiv + Pepton 2 Oesen	Inactiv + Pepton 10 Oesen
Sofort nach Aussaat . . .	Serum	viel	sehr viel	viel	sehr viel	viel	sehr viel	viel	sehr viel
4 Std. „ „ . . .	„	9	37	sehr viel	„ „	187	274	sehr viel	„
Sofort nach Aussaat . . .	Gelatine	10803	52830	10376	51600	7938	41035	7733	59535
4 Std. „ „ . . .	„	3	86	48105	unzählbar	144	282	unzählbar	unzählbar
Resultate		fast Tödtung	starke Abnahme	Vermehrg.	Vermehrg.	starke Abnahme	starke Abnahme	Vermehrg.	Vermehrg.

Es ist also schon nach diesen Versuchen nicht zu bezweifeln, dass das Kaninchenserum im frischen Zustande deutliche baktericide Wirkung hat, und dass das durch Erhitzen inactivirte wirkungslos bleibt. Freilich spielt dabei die Menge der eingebrachten Bakterien und deren Art eine gewisse, und wie der Versuch mit Typhusbacillen zeigt, nicht unwesentliche Rolle, so dass die baktericide Wirkung des Kaninchenblutes unter Umständen mehr oder weniger prägnant hervortritt. Der Peptonzusatz zum Serum hat zwar einen Einfluss zu Gunsten der Bakterien, aber er kann erstens durchaus nicht die baktericide Wirkung des Kaninchenserums aufheben und verbessert zweitens beide Serumarten, das active und inactivirte, in gleicher Weise. Die letzte Erscheinung zeigt, dass die Inactivirungsprocedur keinen Einfluss auf die Schwankungen des Peptongehalts hat; übrigens konnte man schon a priori die Bildung von Pepton durch kurze und leichte Erwärmung eiweisshaltigen Serums nicht erwarten. — Es ist noch zu erwähnen, dass das Serumplatten- und das parallel ausgeführte Gelatineplattenverfahren uns die gleichen endgültigen Resultate gegeben haben; nur war auf den Serumplatten die Zahl der ausgewachsenen Colonieen mitunter etwas grösser, als auf den Gelatineplatten. Daraus geht hervor, dass unsere gebräuchliche Gelatineplattenmethode durchaus nicht unrichtige Resultate liefert, weil dabei nicht, wie Baumgarten meint, ein enormer Untergang der durch das frische Serum plasmolysirten Bakterien stattfindet, sondern nur das Absterben einiger Keime bewirkt wird. Dieses Absterben der Bakterien in unserem Falle entsteht im gleichen Grade bei Uebertragung von activem wie inactivem Serum auf Gelatine. Dies spricht wieder gegen die Assimilationstherie und vermuthliche Annahme, dass die Bakterien in frischem Serum wegen wenig geeigneter Nahrzusammensetzung mehr plasmolysirt werden, als im erwärmten (inactivirten) Serum; denn dann müssten wir die stärkere Verminderung der Zahl der Bakterien bei Uebertragung von activem Serum, als von inactivem erwarten, was nicht der Fall ist.

Es genügt mir, hierdurch die Haupteinwände Baumgarten's gegen die Lehre von der baktericiden Wirkung des Blutserums widerlegt zu haben. Die weitere Verfolgung dieser Fragen, welche noch nach vielen Richtungen überaus erwünscht erscheint, wird von anderer Seite geschehen.

Im Folgenden möchte ich noch über Versuche berichten, die ich über die Natur der baktericiden Körper angestellt habe, eine Frage, über welche auch noch keineswegs eine einheitliche Anschauung im Kreise berufener Forscher herrscht, obschon sie im Uebrigen, entgegen Baumgarten's Ansicht, die Existenz der betr. wirksamen Stoffe an und für sich



voll anerkennen. Während man nämlich im Allgemeinen mit Ehrlich dazu neigt, die Abwehrstoffe überhaupt als Produkte der Zellthätigkeit aufzufassen, haben einzelne Forscher die Meinung, dass die Stoffe der erworbenen Immunität von den Körperzellen unabhängige, direkte Abkömmlinge der Bakterien seien, seien es nun Stoffwechsel-, seien es Zerfallsproducte derselben. So haben neuerdings Emmerich und Löw[1] auf Grund zahlreicher Experimente die Behauptung aufgestellt, dass die genannten Schutzstoffe enzym- oder fermentartige Körper seien, welche von den Bakterien producirt werden und auf früher Stufe agglutinirende, auf späterer bakteriolytische Eigenschaft besitzen. Diese Versuche erschienen mir so wichtig, dass ich eine Nachprüfung für angezeigt hielt.

Ich verfuhr hierbei genau nach den Angaben von Emmerich und Löw. Da die Mehrzahl ihrer Versuche mit alten Bouillon-Reinculturen von Bacillus pyocyaneus angestellt ist, so legte ich zunächst in mehreren Erlenmeyer-Kolben Culturen an und konnte, wie die genannten Autoren, beobachten, dass zunächst ein grünliches Häutchen auf der Bouillonoberfläche gebildet wird, welches beim Schütteln zu Boden sinkt, alsbald aber durch ein neues ersetzt wird. Diese Manipulation kann man mit gleichem Erfolg in den ersten zwei Wochen mehrmals wiederholen, bis endlich die Neubildung des Häutchens nicht mehr stattfindet. Die Bouillon ist zu dieser Zeit ganz trüb, enthält grössere oder kleinere flottirende Flocken und reichlichen Bodensatz. Zu Ende der dritten oder vierten Woche wird die Bouillon allmählich klar und bekommt gleichzeitig eine grüne Färbung; dabei reichlicher Bodensatz. Nach 6 bis 8 Wochen wird die Bouillon dunkelgrün gefärbt, ganz klar, sehr schleimhaltig und zeigt verminderten weisslichen, ziehenden Bodensatz. Später, ungefähr nach 8 bis 10 Wochen, wird die Farbe der Bouillon braun. Der Bodensatz vermindert sich mehr und mehr, ohne jedoch ganz zu verschwinden. Noch nach 3 Monaten war ein Rest von ihm vorhanden, welcher aus Krystallen, Resten der Bakterienleiber und noch lebendigen Keimen bestand, eine Thatsache, die zu den Versuchsergebnissen von Emmerich und Löw im Widerspruch steht. Ebenso möchte ich besonders hervorheben, dass die Bouillon selbst nach 8 Wochen nie sauer war, sondern stets noch eine schwache Alcalescenz (= 0·1 ccm Norm. NaOH) aufwies. Wichtig erscheint mir fernerhin das besonders starke Schleimigwerden der Pyocyaneusbouillon in späterem Stadium; denn ich halte es nicht für ausgeschlossen, dass dies auch eine gewisse schädigende Wirkung auf die in Bouillon eingebrachten Bakterien ausüben kann.

---

[1] Bakteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infectionskrankheiten durch dieselben. *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXXI.



Diese alten Pyocyaneus-Bouillonculturen filtrirte ich durch sterile Berkefeldfilter. Dieselben ergeben im allgemeinen, wenn man sie nicht zu lange benutzt und vorsichtig behandelt, sterile Filtrate, so dass ich nur selten über Durchlässigkeit zu klagen hatte und lebende Keime im Filtrat nachweisen konnte. Jedenfalls aber halte ich die Annahme von Löw und Emmerich, dass die Berkefeldfilter für die (unbekannten) angeblich auch sehr hitzebeständigen Sporen der Pyocyaneusbacillen durchgängig seien, für unwahrscheinlich; wenigstens konnte ich mich davon überzeugen, dass ein $^3/_4$-, ja $^1/_4$ stündiges Erhitzen im Wasserbade Culturen sicher abtödtet.

Ich studirte nun die Wirkung dieses keimfreien Filtrats, der „Pyocyanase", wie Emmerich und Löw es genannt haben, auf Milzbrandbacillen, und kann im Grossen und Ganzen die Ergebnisse von Emmerich und Löw bestätigen, ja es geht sogar aus der Tabelle I hervor, dass die Wirkung unserer Pyocyanase noch kräftiger war als die von Löw und Emmerich benützte. Schon nach 24 Stunden waren Milzbrandbacillen von einer frischen, 24 stündigen Reincultur in dem Filtrat völlig zu Grunde gegangen und zwar bei anaërober Aufbewahrung schneller als bei aërober.

Tabelle II.

Versuchsreihe	Zeit	1 ccm Pyocyanaselösung enthielt Milzbrandbacillen		Bei welcher Temperatur aufbewahrt
		aërobe Aufbewahrung	anaërobe Aufbewahrung	
I	Sofort nach der Aussaat	85 333	181 333	22° C.
	5 Std. „ „ „	533	260	
	24 „ „ „ „	0	0	
II	Sofort nach der Aussaat	367 300	488 100	22° C.
	6 Std. „ „ „	180	200	
	24 „ „ „ „	0	0	
III	Sofort nach der Aussaat	374 500	519 900	37° C.
	6 Std. „ „ „	66	0	
	24 „ „ „ „	0	0	

Diese Thatsache erklären Emmerich und Löw durch die bakteriolytische Wirkung der in Pyocyaneusbouillon befindlichen Pyocyaneusenzyme. Doch schien es wohl möglich, eine andere Erklärung zu geben und zwar die, dass bei dieser Erscheinung die Erschöpfung des Nährbodens eine Hauptrolle spielt. Um dies zu entscheiden, habe ich Versuche angestellt, bei denen ich meine Pyocyanase zur Hälfte mit steriler Bouillon versetzte (vergleiche auch die Tabelle V).



Tabelle III.

Zeit	1 ccm Pyocyanase, zur Hälfte mit Bouillon verdünnt, enthielt Milzbrandbacillen	
	aërobe Aufbewahrung bei 37° C.	anaërobe Aufbewahrung bei 37° C.
Sofort nach der Aussaat	20 800	25 200
6 Std. „ „ „	0	0
24 „ „ „ „	0	0

Die Resultate dieses Versuches zeigen also, dass die Milzbrandbacillen auch in diesem Gemisch zu Grunde gehen, obwohl die verdünnte Bouillon schon genügende Menge von Nährstoffen enthielt (Tabelle IV), wie Controlversuche ergaben (s. Tabelle IV).

Tabelle IV.

Zeit	1 ccm Bouillon enthält Milzbrandbacillen	1 ccm Bouillon, zur Hälfte mit H_2O verdünnt, enthält Milzbrandbacillen	1 ccm Bouillon, zur Hälfte mit physiolog. Kochsalzlösung verdünnt, enthält Milzbrandbacillen
Sofort nach der Aussaat	26 000	21 425	27 600
3 Std. „ „ „	—	55 975	—
6 „ „ „ „	42 800	unzählbar	281 700
24 „ „ „ „	unzählbar	„	unzählbar

Damit war bewiesen, dass die Milzbrandbacillen vernichtende Eigenschaft der alten Pyocyaneusbouillonculturen nicht vom Mangel des Nährmaterials abhängt, sondern in der That von darin befindlichen wirksamen Stoffen.

Emmerich und Löw halten diese Stoffe für Enzyme, welche ihrer Ansicht nach von den Bakterien abgeschieden werden. Jedoch scheint etwas gegen die enzymartige Natur der betreffenden Körper zu sprechen: nämlich die hohe Hitzebeständigkeit. Der folgende Versuch (Tabelle V) zeigt, dass sogar halbstündiges Kochen im Wasserbad die Pyocyaneusbouillon ihrer baktericiden Wirkung nicht beraubt. (Emmerich und Löw stellen daher die Pyocyanase in eine Reihe mit Papayotin.)

Tabelle V.

Zeit	1 ccm gekochte Pyocyanaselösung enthält Milzbrandbacillen	1 ccm ungekochte Pyocyanaselösung enthält Milzbrandbacillen
Sofort nach der Aussaat	61 500	71 000
3 Std. „ „ „	0	0
6 „ „ „ „	0	0



Tabelle V. (Fortsetzung.)

	1 ccm gekochte Pyocyanaselösung, zur Hälfte mit Bouillon versetzt, enthält Milzbrandbacillen	1 ccm ungekochte Pyocyanaselösung, zur Hälfte mit Bouillon versetzt, enthält Milzbrandbacillen
Sofort nach der Aussaat	226 050	226 050
1 1/2 Std. „ „ „	0	0
24 „ „ „ „	0	0

Wie sich in weiteren Versuchen (Tabelle VI) zeigte, ist quantitativ das Vernichtungsvermögen der in der Pyocyaneusbouillon befindlichen Stoffe sehr bedeutend, obwohl hierin gewiss erhebliche Schwankungen vorkommen werden. Bemerkenswerth ist, dass die Lebensfähigkeit der in Pyocyanaselösung eingebrachten Bakterien ungefähr nach gleicher Zeit verloren geht, unabhängig, ob eine kleine oder eine ungeheuer grosse Menge eingebracht wird.

Tabelle VI.

Einsaat	1 ccm Pyocyanaselösung enthält Milzbrandbacillen nach Aussaat von			
	1/2 Stunde	5 Stunden	8 Stunden	24 Stunden
300		0		0
700 000		0		0
2 850 000		0		0
1/2 Agarcult. in 2 ccm Pyocyan. unzählbar		0		0
3 050	1		0	0
28 650	12		0	0
81 600			0	0
483 300			0	0
1 308 150			0	0
unzählbar			0	0

Diese Wirkung wird durch Verdünnung aufgehoben. Wenn wir immer eine und dieselbe Quantität von Pyocyaneusbouillon mit verschiedenen Mengen der gewöhnlichen Bouillon in mehreren Reagensgläsern mischen und dann eine gewisse Portion der Milzbrandbouillonaufschwemmung jedem Reagensglase beifügen, so kommen wir, wie aus Tabelle VII hervorgeht, zu dem Resultat, dass die Stoffe unserer Pyocyaneusbouillon bei Verdünnung 1:11 nicht mehr baktericide Wirkung auf die Milzbrandbacillen ausüben können.

Dieselbe baktericide Wirkung entfaltet Pyocyaneusbouillon, wie schon Emmerich und Löw bemerkt haben, nicht nur gegen den Milzbrandbacillus allein, sondern auch gegen andere Bakterienarten, namentlich Typhus-, Diphtherie-, Cholera asiatica-Bacillen und Staphylococcus pyogenes. Dabei werden nicht alle genannten Bakterien mit gleicher Kraft vernichtet.

Tabelle VII.

Die Bezeichnung der Verdünnung	Die Zahl der Milzbrandbacillen in 1 ccm	
	bei der Einsaat	12 Std. nach Einsaat
Die 1:1 verdünnte Pyocyaneuslösung	245 500	0
„ 1:2 „ „	183 100	0
„ 1:3 „ „	221 500	0
„ 1:4 „ „	216 600	0
„ 1:5 „ „	145 300	0
„ 1:7 „ „	39 100	0
„ 1:11 „ „	38 200	78 300
„ 1:21 „ „	3 800	83 900

Tabelle VIII.

Name der Bakterien	Zeit	Die Zahl der Bakterien in 1 ccm Pyocyanaselösung			
		aërobe Aufbewahrung bei 37° C.		anaërobe Aufbewahrung bei 37° C.	
Diphtherie	Sofort nach der Aussaat	355 000	666 300	284 000	481 600
	24 Std. „ „ „	0	0	0	0
	48 „ „ „ „	0	0	0	0
Cholera asiat.	Sofort nach der Aussaat	9 256 500	10 977 000	17 961 600	19 836 000
	24 Std. „ „ „	0	0	0	0
	48 „ „ „ „	0	0	0	0
Staphylococc.	Sofort nach der Aussaat	18 859 500	29 991 000	20 781 000	unzählbar
	24 Std. „ „ „	14 662 500	22 365 000	0	0
	48 „ „ „ „	39 577 500	78 739 500	0	0
	96 „ „ „ „	2 845 900	3 945 500	0	0
	168 „ „ „ „	989 700	1 627 200		
Typhus	Sofort nach der Aussaat	22 125 700		32 944 600	
	24 Std. „ „ „	16 267 500		939 200	
	48 „ „ „ „	969 900		284 800	
	120 „ „ „ „	0		0	

Ausserdem ist der aërobe oder anaërobe Zustand nicht ohne Einfluss auf die Intensität der Wirkung. Das letztere konnten Emmerich und Löw bei ihren Untersuchungen für Pyocyanaselösung nicht bestätigen.



Gleichwohl schreiben sie diesem Umstande eine sehr wichtige Rolle für das Eintreten der bakteriolytischen Wirkung des Serums im immunisirten Organismus zu. Sie erklären diese Thatsache durch den Einfluss des Sauerstoffes auf die Lebensthätigkeit der Bakterien, welche je nach den verschiedenen Lebensbedingungen leichter oder schwerer der Wirkung des Immunproteïdin (Nuclease + Eiweiss der Organismen) widerstehen. Nach meinen Versuchen ist die Thatsache richtig, nicht nur für das vermuthete Immunproteïdin, sondern auch für die Nuclease bezw. Pyocyanase selbst.

Es fragt sich nun: darf man diese zweifellos vorhandene, bakterienvernichtende Eigenschaft der Pyocyaneusbouillon in Beziehung zu gleichzeitig bestehendem bakteriolytischen und agglutinirenden Vermögen dieser Bouillon bringen und in der Weise den Tod der Bakterien erklären (Emmerich und Löw)?

Ich konnte mich nicht davon überzeugen, dass es sich in der That um eine Bakteriolyse, um eine Auflösung des Zellleibes handelt. Die Milzbrandbacillen erscheinen mikroskopisch zwar stark gekörnt, aber behalten noch lange, nachdem sie das Lebensvermögen verloren haben, ihre Form, die fadenförmige Lagerung und die Fähigkeit den Farbstoff aufzunehmen bei. Die Typhusbacillen zeigen schon mehr Veränderungen in ihrer Form und Structur, aber ziemlich spät, erst nach 24 Stunden; viele von ihnen werden in Pyocyanaselösung so geschädigt, dass sie Lücken aufweisen oder nur noch als blasse Schatten oder verschiedene, grosse oder kleine, lange, gebogene, angeschwollene, ausgebuchtete Involutionsformen in die Erscheinung treten. Zwischen solchen Bakterien findet man schon nach 48 Stunden besonders viel Körnchen oder Zerfallsproducte. Trotzdem zeigt das Plattenverfahren, dass eine so geschädigte Cultur noch lange eine Anzahl lebender Keime enthält, welche auf der Platte auszuwachsen vermögen. Typische agglutinirende Wirkung der Pyocyaneusbouillon gegenüber den Typhusbacillen konnte ich selbst nach mehreren Tagen und bei Anwendung concentrirter, durch Eindampfung von 10 Theilen auf 1 Theil gewonnener Pyocyaneusbouillon nicht nachweisen. Die Choleravibrionen erleiden ebenso wie die Typhusbacillen sehr starke Veränderung in ihrer Form und Structur, dagegen die Diphtheriebacillen und Staphylokokken nicht.

Da ich also die von Löw und Emmerich beobachteten Erscheinungen typischer Bakteriolyse und charakteristischer Agglutination durch Pyocyaneusbouillon nicht zu bestätigen vermag, so sehe ich auch keinen zwingenden Grund ein, die wirksamen Stoffe der Pyocyaneusbouillon mit Alexinen oder irgend einem specifischen Stoffe der immunisirten Organismen zu identificiren. Man kann sich vielmehr wohl denken, dass die Abtödtung der Bakterien in immunen oder immunisirten Organismen nicht lediglich von den Enzymen der betreffenden Bakterien abhängt, welche nach



Emmerich und Löw im Organismus mit Eiweisssubstanzen des Körpers zusammentreten. Dessenungeachtet ist natürlich die Erforschung der Bakterienenzyme nach den von Emmerich und Löw mitgetheilten und in wesentlichen Theilen von mir bestätigten Resultaten wichtig und kann uns sehr wohl sogar in Zukunft eine Reihe von neuen Heilmitteln für Infectionskrankheiten bringen.

Ob diese Hoffnung, welcher sich die beiden genannten Autoren mit grosser Zuversicht hingeben, begründet ist, darüber habe ich ebenfalls durch einige eigene Versuche eine Orientirung zu gewinnen versucht. Dieselben wurden mit einer im Exsiccator von 10 Theilen auf 1 Theil eingeengten concentrirten Lösung an mit Milzbrand geimpften Kaninchen angestellt und haben in einem Falle Genesung ergeben, während in den anderen 5 Fällen die Kaninchen allerdings zu Grunde gingen, jedoch merklich später, als die unbehandelten Controlthiere. Einen gewissen günstigen Einfluss dieser Behandlung kann ich also bestätigen.

Eine weitere Prüfung an zahlreicheren Versuchsthieren war mir leider nicht möglich, da ich äusserer Verhältnisse wegen die Arbeiten abbrechen musste.

Die Versuche wurden im März 1900 abgeschlossen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Breslau.]

Ueber die Bedeutung der Salze für die baktericide Wirkung des Serums.

Ein Beitrag zur Alexinfrage

von

Privatdocent Dr. **von Lingelsheim.**

In einer im XXXV. Bande dieser Zeitschrift veröffentlichten Arbeit theilt A. Fischer die Resultate seiner eingehenden Studien über das Verhalten der Bakterien in Salzlösungen mit. Diese Untersuchungen, eine Fortsetzung früher schon an anderer Stelle veröffentlichter, richten ihre besondere Spitze gegen die bisher übliche Auffassung der baktericiden Wirkungen des Blutes, die in der Annahme eigenthümlich gearteter activer Eiweisskörper gipfelt. Fischer steht ganz auf dem Boden der Baumgarten-Walz'schen Versuchsresultate, nach denen das Zugrundegehen von Bakterienkeimen im Blutserum nur eine Folge osmotisch-nutritiver Störungen ist. Für den Raum dieser kleinen Mittheilung würde es zu weit führen, wenn ich den ganzen historischen Entwickelungsgang dieser beiden Richtungen, deren Gegensätzlichkeit bisweilen in sehr heftig geführten Controversen zum Ausdruck gekommen ist, wiedergeben wollte. Hier sei nur erwähnt, dass Nutall, der zuerst im Flügge'schen Institute die baktericide Kraft des Blutes einer näheren Untersuchung unterzog, an eine fermentative Wirkung dachte. Buchner dagegen, der sich dann weiter am eingehendsten mit der Frage beschäftigte, glaubte zunächst, dass es sich hier um eine Erscheinung sui generis, um eine besondere Eigenthümlichkeit des lebenden activen Eiweisses handele; in seinen späteren Veröffentlichungen gilt jedoch auch ihm die Annahme eines baktericiden Enzymes für wahrscheinlicher. Im gleichen Sinne haben sich auch schon Emmerich und



Löw in einer Arbeit aus dem Jahre 1892 ausgesprochen. Nach Ehrlich schliesslich und seinen Schülern, deren Arbeiten die neueste Phase auf diesem Gebiete darstellen, würde man in Analogie der globuliciden Substanzen nicht an ein einziges einheitliches Enzym zu denken haben, sondern an eine ganze Anzahl solcher, die sowohl in Bezug auf den sogen. „Zwischenkörper" wie das Complement verschieden sein können.

Diesen Anschauungen, nach denen die Bakterienzellen im Serum durch gewisse eigenthümliche Agentien von fermentartig labiler Natur direct geschädigt werden, stellte sich schon frühzeitig eine andere Theorie gegenüber, die in der Keimverminderung nur ein durch Schwierigkeiten in der Assimilation bedingtes beschleunigtes aber spontanes Absterben sah (Assimilationstheorie). So führte Petruschky in einer unter Baumgarten's Leitung entstandenen Arbeit das Absterben von Milzbrandbacillen in dem Lymphsacke des Frosches darauf zurück, dass die Eiweissstoffe des Serums bei niederer Temperatur kein nährfähiges Material darstellten. Für das Serum höherer Thiere entfiel die Möglichkeit dieser Erklärung. Man stellte sich hier vor, dass die an peptonisirtes Eiweiss gewöhnten Bakterien zunächst keine proteolytischen Enzyme, durch die das hochmoleculare Serumeiweiss in assimilationsfähiges Material verwandelt werden konnte, secernirten, wodurch sich dann für sie nach Uebertragung in Serum ein mehr oder minder langer Hungerzustand ergeben musste. Später glaubte man dann noch ein anderes wichtiges Moment gefunden zu haben, das bei der Abnahme der Keimzahl eine Rolle spielte, nämlich den hohen Salzgehalt des Serums. Schon im Jahre 1881 war von K. Roser (78) die Bedeutung desselben für die Immunität hervorgehoben. Auch Metschnikoff stand der hier geäusserten Hypothese sympathisch gegenüber, aber erst nachdem Fischer die Ergebnisse der osmotischen Studien an den Zellen der höheren Pflanzen auf die Bakterien übertragen hatte, schienen sich greifbare Anhaltspunkte für die baktericide Wirkung der Salze zu ergeben.

Im Anschluss an die Fischer'schen Arbeiten über Plasmolyse und in Ergänzung der Jetter'schen (43) Resultate theilte dann neuerdings Walz (44) eine grosse Reihe von Versuchen mit, die darthun sollten, dass, wie das Jetter schon nachgewiesen hatte, eine Anzahl ganz beliebiger Flüssigkeiten, Heu- und Strohinfus, namentlich aber auch Salzlösungen baktericid wirkten. Es bedürfe darnach gar nicht der Annahme besonderer baktericider Stoffe im Serum, um die Keimverminderung zu erklären. Die Ungunst des Substrates und der hohe Salzgehalt seien hierfür ausreichend.

Was der Hinweis auf die baktericide Wirkung aller dieser verschiedenen Pflanzenextracte, der Gurken- und Radieschenbouillon, also von Substanzen,



deren genauere chemische Zusammensetzung wir ebenso wenig kennen wie die des Blutserums, beweisen soll, ist nicht recht ersichtlich. Der Schwerpunkt der ganzen Beweisführung liegt offenbar darin, dass auch die Uebertragung von Bakterien in nährstofffreie Salzlösungen zu entschiedener Keimverminderung führen kann. Hier knüpft dann auch Fischer in seiner eingangs citirten Arbeit an. Er geht aber noch einen Schritt weiter und sucht mikroskopisch auch die völlige Identität der Absterbeprocesse im Serum mit denen durch Salzlösungen zu erweisen. Diese Ausführungen schienen doch beachtenswerth, und so bin ich, trotz einiger doch recht erheblicher Widersprüche in denselben zu durchaus einwandsfreien Thatsachen, doch gern einer Anregung von Hrn. Geheimrath Flügge gefolgt, die baktericide Wirkung des Serums einer erneuten Prüfung zu unterziehen. Vorher sei mir kurz gestattet, die Punkte hervorzuheben, die für das Verständniss der osmotischen Wirkungen auf Bakterien und ihrer Beziehungen zum Absterbeprocess derselben in Betracht kommen.

Die hier grundlegenden Untersuchungen finden wir in den Abhandlungen von Pfeffer und seinen Schülern sowie in den schon mehrfach erwähnten H. Fischer's niedergelegt, auf die ich für alle Einzelheiten verweise. Wie in jeder Pflanzenzelle, so haben wir uns auch in jeder Bakterienzelle einen gewissen osmotischen Druck wirkend zu denken, der den Protoblasten fest an die ihn einhüllende Zellmembran anschmiegt und so die Turgescenz der Zelle bedingt.[1] Von aussen wirkt auf dieselbe Zellmembran der osmotische Druck des umgebenden Mediums. Es ist ersichtlich, dass der Turgor nur so lange besteht, als der von innen wirkende Zelldruck den äusseren Druck compensirt.

Hierzu sind für die Zelle normaler Weise verschiedene Möglichkeiten gegeben; es können osmotisch wirksame Substanzen von aussen aufgenommen oder es können solche im Innern durch physiologische Thätigkeit producirt werden (Säure u. s. w.). Tritt aber nun der Fall ein, dass sich sehr erhebliche oder sehr plötzliche einsetzende Druckschwankungen in dem umgebenden Medium vollziehen, so sind diese Regulationen ihrer Aufgabe nicht mehr gewachsen. Die weiteren Schicksale des Protoblasten sind dann in erster Linie von der Beschaffenheit seiner Membran abhängig. Ist dieselbe semipermeabel, d. h. lässt sie Wasser passiren, setzt aber dem Eindringen von Salzen einen grossen Widerstand entgegen, so tritt Wasser

[1] Fischer nimmt von der Bakterienzelle einen ähnlichen Bau an, wie wir ihn von den Zellen höherer Pflanzen kennen. Das Protoplasma ist danach nicht homogen, sondern besteht aus einem mehr oder minder kräftigen Wandbelag (Primordialschlauch), der einen, den grössten Theil des Lumens ausfüllenden Saftraum (Vacuole) einschliesst.



aus der Zelle aus, der Protoblast schrumpft und zieht sich — meist unter Bildung kugeliger oder elliptischer Körperchen — von der Zellwandung zurück. Dieser Vorgang, die Plasmolyse, kann sich nur an einer lebenden Zelle in der geschilderten Weise abspielen und ist noch als eine Bethätigung der Lebensenergie anzusehen. Plasmolysirte Bakterien können bei vorsichtiger Uebertragung auf ein geeignetes Medium ihre normale Beschaffenheit wiedergewinnen. Bleibt aber der hohe Aussendruck bestehen, so kann es schliesslich doch zu einem Durchtritt von Salz durch die Membran kommen. Die nächste Folge davon ist zunächst eine vorübergehende Druckausgleichung innerhalb der Zelle; die Plasmolyse geht zurück, um aber bald bei Fortdauer der Salzaufnahme zu einem anderen Vorgange zu führen, den Fischer als Plasmoptyse bezeichnet. Durch die Anhäufung von Salz kommt es nämlich in cylindrischen Zellen — kugelige werden nach Fischer in Folge des günstigeren Verhältnisses von Inhalt zu Oberfläche weniger betroffen — zu einer solchen Drucksteigerung, dass die Membran reisst und Protoplasmainhalt aus dem Spalt hervorgepresst wird. Die Plasmoptyse muss natürlich ihrer Natur nach für die Zelle im höheren Grade deletär sein als die Plasmolyse, bei der ja der Protoblast als solcher erhalten bleibt.

In der hier geschilderten Weise vollziehen sich die Wirkungen von Drucksteigerungen im umgebenden Medium bei einer ganzen Reihe von Mikroorganismen, so bei Typhus-, Cholera- und Colibakterien. Ganz anders gestaltet sich dagegen der Verlauf, wenn die Membran von vornherein eine höhere Durchlässigkeit für Salze besitzt, wie dies Fischer z. B. bei den Milzbrandbacillen annimmt. Solche Bakterien können nicht plasmolysirt werden. Hier führt das aufgenommene Salz von vornherein zu Drucksteigerungen im Innern der Zelle, die sich bei genügender Concentration unter den Erscheinungen der Plasmoptyse bemerkbar machen.

Es sind somit Beginn und Verlauf dieser osmotischen Vorgänge zunächst abhängig von der Gestalt des Bacteriums sowie der Durchlässigkeit seiner Membran für Salze. Weitere wichtige Factoren sind die Concentration der osmotisch wirksamen Substanz und ihre chemische Beschaffenheit — also das, was den osmotischen Druck quantitativ bestimmt. Die chemische Beschaffenheit hat aber hier noch eine besondere Bedeutung, insofern als, wie Fischer nachgewiesen hat, verschiedene Membranen gegenüber denselben Salzen nicht die gleiche Durchlässigkeit besitzen. Es kann also ceteris paribus ein Salz bei der einen Bakterienart leichter zur Plasmoptyse führen als bei einer anderen.

Es entsteht nun die Frage, ob ein Bacterium den Wirkungen der osmotischen Kräfte ohne Weiteres ausgeliefert ist, ob es unter Verhält-



nissen, denen die durch die normale Lebensthätigkeit geschaffenen Druckregulirungen nicht mehr gewachsen sind, zu Grunde gehen muss. Es zeigt sich, dass das nicht der Fall ist, dass vielmehr die Bakterien auch nach der Richtung einen ausserordentlichen Grad von Adaptionsfähigkeit besitzen. Um sich hiervon zu überzeugen, ist es nur nöthig den Salzen etwas leicht assimilirbares Nährmaterial beizugeben. Unter solchen Verhältnissen zeigen sich die Bakterien befähigt, auch ganz erheblichen Steigerungen des Druckes Widerstand zu leisten.

Man geht wohl nicht fehl, wenn man den Grund hierfür in dem Einsetzen besonderer reactiver Vorgänge sucht, die von dem lebenden Protoblasten ausgehen. Wir werden hier in erster Linie an Veränderungen der Membran denken müssen, sei es in dem Sinne einer Modificirung derselben, wodurch die Passirbarkeit für Salze geändert wird, oder im Sinne gewissermaassen einer „compensirenden Hypertrophie“, also einer mehr mechanischen Verstärkung, durch welche die Widerstandsfähigkeit gegenüber dem erhöhten Innendrucke gefestigt wird. Unerlässliche Bedingung für das Zustandekommen dieser Regulationen ist aber ein gesunder, funktionstüchtiger Protoblast. Nicht nur eigentliche Gifte, nein jedes voraufgegangene Moment der Schwächung, mag es im Nährboden, im Alter der Cultur oder sonst wo gelegen sein, kann unter solchen Umständen für Leben und Tod des Protoblasten ausschlaggebend werden. In noch höherem Grade muss sich selbstverständlich ein schädigender Einfluss bemerkbar machen, wenn er direct auf die Membran wirkt, sie arrodirt oder auf eine andere Weise ihrer Festigkeit beraubt. In einem solchen Falle ist dann schon der minimalste Ueberdruck genügend, um Veränderungen hervorzurufen, die wir sonst nur beim Einsetzen eines viel höheren Druckes beobachten können.

Wir sehen so, dass die Bedeutung osmotischer Druckschwankungen für das Absterben von Bakterien je nach den begleitenden Umständen eine ganz verschiedene sein kann. Daraus ergiebt sich, was von Fischer nicht gebührend berücksichtigt ist, dass wir auch nur dann das Recht haben, die bei Bakterien beobachteten Veränderungen auf rein osmotische Basis zu stellen, wenn wir mit völlig bekannten Substraten arbeiten. Ist das nicht der Fall, ist die Möglichkeit gegeben, dass irgend welche auf Membran oder Protoblast schädigend wirkende Substanzen vorhanden sind, so mag zwar das Bacterium unter den Erscheinungen der osmotischen Störung zu Grunde gehen — der eigentliche Grund für das Absterben ist aber nicht die osmotische Druckdifferenz, sondern eben eine dieselbe erst wirksam machende Noxe. Dass es derartige schädigende Substanzen auch unter den eiweissartigen Körpern giebt, darüber kann doch kein Zweifel sein. Unter anderen müssen wir dieselben in einer Reihe von Bakterienculturen



annehmen, in welche dieselben zu irgend welchen Zwecken secernirt sind. Ich erinnere so an die Versuche von **Emmerich** und **Löw**, die mit ihren Bakterienenzymen bezw. den sie enthaltenden Culturfiltraten anscheinend Wirkungen producirt haben, die den auf rein osmotischem Wege bedingten durchaus ähnlich waren. Ich selbst habe in etwas älteren Choleraculturen, die auf ganz salzarmer Bouillon (0·05 Procent NaCl) angelegt waren, sehr reichliche Plasmoptysekugeln im hängenden Tropfen gesehen. In dem Blutserum haben wir nun gleichfalls ein Substrat von unbekannter Zusammensetzung vor uns, von dem wir schon eine Reihe fermentirender[1] und lytischer Wirkungen anderer Art kennen, und bei dem die Möglichkeit des Vorhandenseins auch solcher auf Bakterien wirkender Substanzen wenigstens a priori doch nicht geleugnet werden kann. Diese Erwägungen müssen dazu führen, dass selbst die einwandfreie Feststellung osmotischer Störungen so lange für die Beurtheilung der keimvermindernden Ursache nicht beweiskräftig wäre, als nicht die Abwesenheit aller lytisch oder sonst schädigend wirkender Körper erwiesen ist.

Ich will jedoch auf diesen Punkt, der die Verpflichtung zur Beweisführung nach der anderen Seite verlegte, zunächst keinen weiteren Werth legen, sondern mich im Folgenden der Frage zuwenden, ob denn die osmotischen Druckdifferenzen, wie sie die Uebertragungen von Agar zum Serum und vom Serum zurück zum Agar mit sich bringen, bei Abwesenheit von Nährstoffen stark genug sind, um eine bactericide Wirkung hervorzubringen, die quantitativ der entspricht, die wir durch ein wirksames Serum hervorrufen können. Diese Druckdifferenzen müssen sich durch Salzlösungen genau dem Serum entsprechend wiedergeben lassen, es müssen also Salzlösungen von bestimmter Concentration wie das Serum baktericid wirken.

Den osmotischen Druck der Blutsalze können wir nach **Hamburger**, dessen Angaben auf anderem Wege bestätigt sind, gleichsetzen einer 0·92 procentigen Kochsalzlösung. Diesen Werth habe ich als Blutsalzwerth meinen Controlversuchen mit Salzlösungen stets zu Grunde gelegt. Unsere gebräuchlichen Nährböden sind dagegen nicht unerheblich salzärmer. Ich habe, um hier einen Anhaltspunkt zu gewinnen, einige Bestimmungen vorgenommen.

In 10 ccm Bouillon waren enthalten:

I.

aus der Kohle mit heissem Wasser extrahirbar	0·087 grm
in der Asche	0·002 „
	0·089 grm

[1] Diastatisches Ferment von **Röhmann** (**Pflüger's** *Archiv*, Bd. XXV) un **Bial**, *Inaug.-Diss.*, Breslau.

II.

extrahirbar	0·086 grm
in der Asche	0·0015 „
	0·0875 grm

In 100 ccm Fleischwasser waren enthalten:

aus der Kohle mit heissem Wasser extrahirbar	0·323 grm
in der Asche	0·031 „
	0·354 grm

Hierzu würden dann noch 0·5 Procent Kochsalz hinzuzurechnen sein.

Im Mittel wäre der Gehalt an Salzen = 0·88 Procent zu rechnen. Sehen wir den osmotischen Druck der Fleischsalze in der schwach alkalischen Nährbouillon bezw. Agar als in der Hauptsache bedingt durch Dikaliumphosphat an, so wären die 0·38 Procent Fleischsalze isosmotisch 0·17 Procent Kochsalz. Die Nährbouillon hätte also die osmotische Spannung einer 0·67 procentigen Kochsalzlösung.

Bei der Feststellung der baktericiden Wirkung des Serums nach der Plattenmethode hätte also das Bacterium einer Druckdifferenz = 0·25 Procent Kochsalz einmal zu begegnen beim Uebertragen aus dem Nährboden auf das Serum, sodann wieder bei der Aussaat vom Serum auf den Nährboden. Nach der Baumgarten'schen Schule und Fischer ist dies ausreichend für eine baktericide Wirkung, die der Serumwirkuug entspricht. Bei Fischer habe ich nun allerdings vergeblich nach Versuchen über so schwache Salzlösungen gesucht. Er beruft sich in der Regel auf die Wirkung stärkerer (2 procentiger) Kochsalzlösungen, er zieht auch die Erfahrungen von Rysselberghe über das Verhalten höherer Pflanzenzellen gegenüber geringeren Drucksohwankungen heran. Es bedarf keines weiteren Hinweises, dass diese Thatsachen für die hier interessirende Frage nicht beweisend sein können. Jetter und Walz haben allerdings auch mit schwächeren Salzlösungen gearbeitet. Hier aber fehlt dann meist der Controlversuch mit Serum, und ich kann ohne Weiteres nicht die baktericide Wirkung einer Salzlösung, die ich heute mit einer bestimmten Cultur festgestellt habe, mit der eines Serums vergleichen, das ich 8 Tage später untersuche. Ausserdem schwanken die Resultate doch in sehr grossen Grenzen. Völlig gleichmässig sind sie ja auch bei Verwendung desselben Bakterienstammes und desselben Nährbodens nicht herzustellen. Grosse Differenzen ergaben nach meinen Versuchen aber immer nur die Culturen, die von einer, wenn auch nur wenige Tage älteren Cultur abgeimpft waren. Die im regelmässigen Turnus abgeimpften gaben immer wenigstens vergleichbare Resultate.



Bevor ich mich nun zu meinen eigenen Versuchen wende, wird es nöthig sein, einige Worte noch über den methodischen Nachweis der Abtödtung zu sagen.

Jetter und Walz hatten für ihre Versuche, ebenso wie es Buchner und Andere zum Nachweise der Alexine gethan hatten, die Plattenmethode gewählt. Fischer hat sich dagegen anscheinend ganz auf die mikroskopische Untersuchung beschränkt. Hiermit wollte er sowohl den Nachweis der Schädigung bezw. Abtödtung erbringen als auch die Kräfte eruiren, die zu der Abtödtung führen sollten. Was Fischer nun im Serum wie in den Salzlösungen sucht und findet, sind die oben erörterten osmotischen Störungen — die Plasmolyse und die Plasmoptyse. Beide Erscheinungen sind, wie ich mich selbst überzeugen konnte, in Salzlösungen an einer Reihe Individuen nicht schwer aufzufinden. Wer sich aber daran macht, hieraufhin die baktericide Wirkung des Serums zu erforschen, kommt gar bald mit seinen Kenntnissen in die Brüche. Das ergiebt sich schon aus den erheblichen Differenzen in den Angaben der Autoren, die die osmotische Theorie in erster Linie vertreten. Nach Baumgarten lässt sich die Plasmolyse am besten an „den stattlichen Formen des Milzbrandbacillus" verfolgen. Hier sollen schon nach wenigen Minuten, spätestens in einer halben Stunde, „die charakteristischen Erscheinungen der Plasmolyse" an den Bakterien auftreten. Fischer erklärt dagegen, dass die Milzbrandbakterien gerade zu den Bakterien gehörten, die nie plasmolysirt würden. Derselbe scheint auch selbst die Plasmolyse häufig im Serum vermisst zu haben, darauf möchte ich wenigstens die folgende Bemerkung beziehen (S. 51): „ein unberechtigtes Verlangen würde es sein, dass man stets im Serum die Plasmolyse scharf erkennen müsse, wenn sie zum baktericiden Effect beitragen solle. Das ist nothwendig zu betonen, wenn man die Bedeutung der Plasmolyse für die Serumwirkung richtig einschätzen will."

Bei den Bakterien nun, die nicht plasmolysirt werden, wie der Milzbrandbacillus, besteht die osmotische Schädigung in Plasmoptyse. Ueber diese aber lesen wir S. 50: „wenn der Bacillus anthracis oder ein anderes nicht plasmolysirbares Stäbchen-Bacterium in Serum oder Salzlösungen zu Grunde geht, so braucht sich die osmotische Störung nicht bis zur Plasmoptyse zu steigern, es genügt schon, wenn die Bakterien in kurzer Zeit viel Salz aufnehmen, wodurch im Serum ein beträchtlicher Ueberdruck entsteht." Thatsächlich kann man auch Milzbrandbacillen ziemlich lange im Serum beobachten, ohne ein reichliches Ausstossen von Plasmoptysekugeln zu bemerken. Aber, gesetzt auch den Fall, wir beobachteten alle diese Erscheinungen im Serum, so wäre damit für den uns in erster Linie interessirenden Punkt, ob die so veränderten Bakterien zu einem



Fortleben noch geeignet sind, wenig gewonnen. Dass die Plasmolyse zurückgehen kann, habe ich ja eingangs schon erwähnt. Aber auch hinsichtlich der Plasmoptyse lässt es Fischer dahingestellt, ob hier eine restitutio ad integrum eintreten kann oder nicht. Leichter in's Auge springend als die hier betrachteten osmotischen Störungen sind eine Reihe Veränderungen, wie wir sie z. B. bei dem Milzbrandbacillus im Serum beobachten, und wie sie von Nuttall (30) und Sawtschenko (65) beschrieben sind. Ich werde hierauf noch an anderer Stelle zurückzukommen haben, hier will ich nur bemerken, dass es auch für diesen Fall nicht leicht ist, den Grad der Schädigung abzumessen, bezw. zu bestimmen, ob das Bacterium schon abgetödtet ist oder nicht.

Einzelne Abtödtungsvorgänge lassen sich allerdings auch mikroskopisch mit Sicherheit verfolgen. Das gilt vor Allem von der Auflösung der Cholerabakterien in bestimmten Serumarten. Hier ist es auch möglich, den für derlei Untersuchungen unbedingt erforderlichen quantitativen Maassstab zu gewinnen. Für fast alle anderen Fälle sind wir vor der Hand auf die Plattenmethode angewiesen und können die mikroskopische Untersuchung nur zur Ergänzung und Controle verwerthen.

Dass auch diese Methode ihre Mängel hat, ist ja schon vielfach hervorgehoben. Zum Theil sind dieselben bei geeignetem Vorgehen aber doch zu beseitigen oder wenigstens abzuschwächen, einzelne allerdings bleiben immer bestehen und müssen von Fall zu Fall besonders gewürdigt werden. Es sei hier nur kurz auf die wichtigsten Punkte aufmerksam gemacht. Zunächst ist es denkbar, dass eine Anzahl Keime noch lebend auf die Platte übertragen wird und dort zu Grunde geht, weil die neuen Verhältnisse in nutritiver Hinsicht nicht ausreichend sind. Einen gewissen Beweis für die Möglichkeit dieses Falles enthält die Thatsache, dass wir bei gleicher Aussaat pathogener Keime fast immer etwas mehr Colonieen auf der Agarplatte zählen als auf der unter gleichen Bedingungen angelegten Gelatineplatte. Thatsächlich spielt jedoch die Zahl dieser Bakterien keine wesentliche Rolle. Es kommt uns ja doch darauf an zu sehen, wie viel Bakterien in ihrer physiologischen Leistungsfähigkeit soweit erschüttert sind, dass sie unter sonst für sie geeigneten Verhältnissen nicht mehr auszukeimen vermögen. Von grösserer Bedeutung würde ein anderer Punkt sein, auf den Fischer aufmerksam gemacht hat. Fischer geht ja von der Vorstellung aus, dass die Bakterien im Serum sich mit Salz füllen. Kommen sie nun auf einen erheblich salzärmeren Nährboden, wie z. B. Nähragar, so wird der Ueberdruck im Innern so gross, dass sie platzen müssen. Hier würde also die Uebertragung auf den Agar scheinbar die Todesursache sein. Um die Gefahr einer so entstehenden Fehlerquelle kennen zu lernen, habe ich einige Versuche angestellt, in denen



ich jener Möglichkeit durch besondere Maassregeln zu begegnen suchte, und dann die so erhaltenen Resultate mit denen nach der üblichen Methode gewonnenen verglichen.

Schliesslich kommt noch ein Punkt in Betracht, der bei der Plattenmethode sehr leicht zu Täuschungen führen kann, und dieser beruht darauf, dass wir einer Colonie nicht ansehen können, ob sie von einem Keime, von mehreren oder gar von einem Häufchen ausgegangen ist. Da nun in manchen Substraten die Bakterien die Neigung haben, sich zusammen zu lagern, so ist in jedem einzelnen Falle eine genaue mikroskopische Controle unerlässlich. Bei gewissenhafter Berücksichtigung aller dieser Punkte und exacter sonstiger Ausführung giebt uns aber die Plattenmethode immer noch die brauchbarsten Resultate, so dass ich nicht Bedenken getragen habe, sie für die Entscheidung der hier interessirenden Fragen in erster Linie in Anwendung zu ziehen.

Die zu den Versuchen benutzten Bakterienstämme waren der Sammlung des Instituts entnommen und wurden auf denselben Nährböden, auf denen sie bisher gehalten waren, in 24 stündigen Intervallen fortgezüchtet. Solche ältere Culturen halten sich, wenn sie auf den Substraten, an die sie sich einmal gewöhnt haben, weiter verbleiben, viel constanter als frisch aus einem Krankheitsfall gezüchtete. Es ist auch unrichtig und führt nur zu Ungleichmässigkeiten, solche Culturen intercurrent weiter durch das Thier zu schicken. Man muss sich nur vergewissern, dass das culturelle und morphologische Verhalten ein den Anforderungen entsprechendes ist. Der gesammte Agarbelag von solchen 24 stündigen Culturen wurde dann in 2 ccm 0·67 procentiger Kochsalzlösung suspendirt und möglichst gleichmässig vertheilt. Von hier aus übertrug ich dann in je nach dem Versuche wechselnder Menge 1, 2 oder mehrere Oesen in ein 5 ccm fassendes Tropffläschchen, das ebenso mit 0·67 procentiger Kochsalzlösung beschickt war. Das stellte dann die Originalsuspension dar, von der aus die betreffenden auf ihre baktericide Wirksamkeit zu untersuchenden Substrate durch Herausfallenlassen eines Tropfens geimpft wurden. Ein Peptonzusatz zu diesen Suspensionen wurde vermieden. Durch die Untersuchungen Ficker's wissen wir allerdings, dass Aufschwemmungen von Cholerabakterien in Kochsalzlösungen schon in der ersten Platte erheblich geringere Keimzahlen ergeben als solche in Bouillon, dass also die Entziehung von Nährstoffen hier sofort ein erhebliches Absterben von Bakterien zur Folge hat. Bei Typhus- und Milzbrandbacillen ist das jedoch, wie darauf gerichtete Versuche ergaben, in weit geringerem Maasse der Fall, so dass die hier in Verlust gehenden Bakterien keine Rolle spielen. Es konnte deshalb wohl auf den Peptonzusatz verzichtet werden und musste verzichtet werden, da eine Uebertragung von Nährstoff auf die zu untersuchenden Substrate



nach Möglichkeit vermieden werden musste. Diese letzteren befanden sich wie die Originalsuspension in 5 ccm-Tropffläschchen und zwar bei allen Versuchen in der constanten Menge von 1 ccm. Während der Dauer des Versuches wurden sie bei einer Temperatur von 19° C. gehalten.

Jedes Tropffläschchen mit dem dazugehörenden Stöpsel war auf die Tropfengrösse sowohl für Salzlösungen wie Serum geaicht. Die Aichung wurde in der Weise vorgenommen, dass zunächst das Gewicht des leeren Fläschchens, dann dasjenige des mit 1 ccm der betreffenden Flüssigkeit beschickten Fläschchens festgestellt wurde und sodann der jedesmalige Gewichtsverlust nach dem Hinausfallen eines Tropfens. Aus 3 Wägungen wurde das Mittel der Tropfengrösse berechnet. Waren die Differenzen der einzelnen Tropfengrössen erheblicher, so wurde das Fläschchen ausrangirt. Diese Tropfglasmethode, die Ficker zuerst angegeben hat, gestattet eine ausserordentlich gleichmässige Aussaat, wie alle darauf gerichteten Versuche ergaben. Ausserdem wurden noch sämmtliche Tropffläschchen daraufhin untersucht, ob das Glas etwa schädigende Substanzen an Wasser abgab. Es geschah dies unter Vergleichung des Verhaltens von Cholerabakterien in diesen Fläschchen und in Reagensgläschen aus Jenenser Glas. Als Nährboden für die Aussaat habe ich anfangs FP-Gelatine und FP-Agar neben einander angewandt, mich nachher aber auf den Agar beschränkt. Die Reaction des im Uebrigen in bekannter Weise hergestellten Nährbodens war ganz schwach alkalisch für Lackmus = 5 ccm N. S. pro Liter sauer für Phenolphtalein.

In dieser Weise sind die tabellarisch aufgeführten Versuche angestellt. Ich beginne mit denen, die darthun sollen, inwieweit schwächere nährstofffreie Kochsalzlösungen befähigt waren, meine Milzbrand- und Typhusbacillenstammculturen abzutödten.

I. Milzbrandstammcultur.

Virulenz: $^1/_{100}$ Agarcultur tödtet ein Meerschweinchen in 3 bis 4 Tagen.

Spärliche Aussaat.

Concentration	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Destillirtes Wasser . .	364	38	3
0·5 Procent NaCl . .	392	67	1
0·75 „ „ . .	392	41	1
0·92 „ „ . .	386	36	1
1·92 „ „ . .	224	0	0



II. Milzbrandstammcultur.

Reichlichere Aussaat.

Concentration	Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	20 Stunden
Destillirtes Wasser . .	4285	3276	2844
0·5 Procent NaCl . .	4945	5334	4556
0·75 „ „ . .	5130	2785	1875
0·92 „ „ . .	4986	3128	1794
1·92 „ „ . .	4546	0	0

III. Milzbrandstammcultur.

Reichliche Aussaat.

Concentration	Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	20 Stunden
Destillirtes Wasser . .	5132	3712	3590
0·5 Procent NaCl . .	7317	5031	3379
0·75 „ „ . .	7570	7680	3786
0·92 „ „ . .	7902	4914	2730
1·92 „ „ . .	6038	0	0

IV. Typhusstammcultur.

Spärliche Aussaat.

Concentration	Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	20 Stunden
Destillirtes Wasser . .	672	856	424
0·5 Procent NaCl . .	1205	1186	768
0·75 „ „ . .	1578	1288	952
0·92 „ „ . .	1634	1074	224
1·92 „ „ . .	1008	448	188

V. Typhusstammcultur.

Reichlichere Aussaat.

Concentration	Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Destillirtes Wasser . .	39 132	29 489	20 124
0·5 Procent NaCl . .	41 927	58 461	60 870
0·75 „ „ . .	43 489	46 399	23 038
0·92 „ „ . .	40 809	40 250	21 801
1·92 „ „ . .	34 882	20 641	13 416



VI. Typhusstammcultur.
Sehr reichliche Aussaat.

Concentration	Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Destillirtes Wasser . .	93 301	98 479	80 276
0·5 Procent NaCl . .	115 607	149 469	unzählig
0·75 „ „ . .	124 401	160 049	„
0·92 „ „ . .	100 920	110 461	„
1·92 „ „ . .	79 941	81 340	84 636

Ein Ueberblick über diese Tabellen ergiebt, dass am besten eine Concentration von 0·5 bis 0·75 Procent Kochsalz conservirend wirkt, dass oberhalb und unterhalb dieser Grenze Keimverminderungen eintreten können. In wie weit sich dieselben bemerkbar machen, hängt wesentlich von der Menge des Aussaatmateriales ab. Deutliche Abnahme der Keimzahl fand sich bei mässiger Erhöhung der Concentration (bis 0·92 Procent) nur bei spärlicher Aussaat, was ja mit den Experimenten Ficker's und den Ausführungen Fischer's im Einklang steht. Sobald wir stärker besäen, wird die Abnahme der Keime unmerklich oder schlägt in Vermehrung um. Bei sehr reichlicher Impfung rufen auch Concentrationen über 2 Procent keine deutliche Wirkung mehr hervor.

Ich habe dann weiter gegenüber denselben Salzmengen auch Culturen geprüft, die durch successive Gewöhnung an ein sehr salzarmes Medium (0·05 Procent Liebig's Fleischextract + 0·05 Procent NaCl) angepasst waren. Es handelte sich um eine Milzbrandcultur und eine Choleracultur, die von den entsprechenden Stammculturen auf gewöhnlichen Nährböden abgeleitet waren. Die Aussaat geschah bei den abgeleiteten Culturen wieder auf salzarmen Agar; ebenso enthielt die zur Aussaat verwendete Suspensionsflüssigkeit hier nur 0·065 Procent NaCl.

VII. Milzbrandstammcultur (M) und abgeleitete Cultur (Mo).
(Die Zahlen von M sind bereits zu Tabelle III verwandt.)

Concentration		Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Destillirtes Wasser	M	5 132	3 712	3 590
0·5 Procent NaCl	M	7 317	5 031	3 379
0·75 „ „	M	7 570	7 680	5 786
0·92 „ „	M	7 902	4 914	2 730
1·92 „ „	M	6 038	0	0
Destillirtes Wasser	Mo	12 298	9 896	7 208
0·5 Procent NaCl	Mo	16 109	12 996	16 105
0·75 „ „	Mo	15 676	14 207	18 478
0·92 „ „	Mo	14 301	12 450	14 164
1·92 „ „	Mo	11 518	9 938	10 285

VIII. Cholerastammcultur (Ch) und abgeleitete Cultur (Cho).

Concentration		Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Destillirtes Wasser	Ch	280	1	0
0·5 Procent NaCl	Ch	224	168	0
0·92 „ „	Ch	302	290	0
1·92 „ „	Ch	112	15	0
Destillirtes Wasser	Cho	336	0	0
0·5 Procent NaCl	Cho	728	0	0
0·92 „ „	Cho	560	1	0
1·92 „ „	Cho	224	0	0

Die auf salzarmen Medien gezüchteten Cholerabacillen erlagen also der Einwirkung auch schwächerer Kochsalzconcentrationen in höherem Maasse als die auf gewöhnlichem Agar gezüchteten, während die M(o)-Cultur sich widerstandsfähiger erwies, als die ursprüngliche Cultur. Zur Erklärung der letzteren Thatsache können wir einestheils annehmen, dass der auf dem üblichen salzreicheren Agar cultivirte Milzbrand schon so mit Salzen gesättigt ist, dass jetzt schon ein kleines Plus zur deletären Drucksteigerung genügt. Andererseits wird man aus gleich zu erörternden Gründen auch annehmen dürfen, dass der auf dem salzarmen Agar gezüchtete Milzbrand einen leistungsfähigeren Protoblasten besitzt. Hierauf deuteten die ausserordentliche Haltbarkeit auf den künstlichen Nährböden (ohne Sporenbildung) und das lange anhaltende üppige und zur Hautbildung führende Wachsthum auf Bouillon und Gelatine bei Brüttemperatur. Die Virulenz war nicht verändert, die Neigung zur Fädenbildung etwas herabgesetzt. Auch die Ch(o) wuchs schliesslich sehr üppig und hielt sich durch Monate auf künstlichen Nährböden lebend. Ich will nur noch bemerken, dass die Gewöhnung mehrere Wochen bei diesen Culturen in Anspruch nahm, und dass speciell bei dem M(o) eine Periode ausgesprochener Involution wahrzunehmen war, bis der stabile Zustand erreicht war.[1]

[1] Ich habe mir die Frage vorgelegt, ob es sich nicht empfiehlt, diese Bakterienarten ständig auf salzärmeren Medien zu züchten, ob es nicht überhaupt zeitgemäss wäre, unsere Nährböden für Bakterien unter diesen Gesichtspunkten einer Revision zu unterziehen. Man ist hinsichtlich des Salzgehaltes derselben von Voraussetzungen ausgegangen, die nicht für alle Fälle zutreffend sind. Der Salzgehalt der Nährböden sollte offenbar so gestellt werden, dass er dem auf Grund der chemischen Analyse festgestellten Salzgehalte der thierischen Säfte entspricht. Für die Bakterien aber kommt es nun wesentlich auf den von den Salzen ausgeübten osmotischen Druck an. Dieser muss aber an manchen Stellen des Thierkörpers, wo sich die Bakterien aufhalten, ziemlich gering sein. In den Zellen beispielsweise ist ein grosser Theil der Salze organisch gebunden, kann also erst bei allmählichem Abbau der hoch constituirten Verbindungen zur osmotischen Wirksamkeit kommen. Für die rothen Blutzellen



Ausser dem Kochsalze, das nur ca. 60 bis 70 Procent der Mineralstoffe des Serums ausmacht, sind in demselben noch eine Reihe anderer Salze enthalten, von denen möglicher Weise das eine oder andere noch für die Abtödtung der Bakterien in Betracht kommen könnte. Schon Jetter hat nach der Richtung Versuche gemacht, zum Theil, indem er Serum dialysirte und dann das Dialysat auf das ursprüngliche Volum eindampfte, zum Theil, indem er coagulirtes Serum mit Wasser extrahirte. Es fehlt in den Jetter'schen Mittheilungen jede Angabe darüber, mit welcher Salzconcentration er auf diese Weise zu thun hatte. Wenn ich wie Jetter nur 48 Stunden dialysirte, so zeigte sich, dass nur ganz geringe Salzmengen die Membran passirt hatten. Ich habe dann 30 ccm Pferdeserum 12 Tage lang im kühlen Raume dialysirt und dann ein Dialysat erhalten, das im eingeengten Zustand eine gelbliche eiweissfreie Flüssigkeit von alkalischer Reaction darstellte. Das Gewicht der darin enthaltenen Trockensubstanz betrug 0·229 grm. Da wir den Salzgehalt des Pferdeserums ungefähr gleich 0·81 Procent setzen können, so hätten die 0·229 grm in 27 ccm destillirten Wassers gelöst werden müssen. Da aber in dem Dialysat noch andere Stoffe, Farbstoff, Extractivstoffe enthalten sein mussten, so wurden nur 25 ccm Wasser zugesetzt. Die Prüfung der baktericiden Wirkung einer solchen Lösung ergab

IX. Milzbrandstammcultur.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Dialysat	5866	5	0
0·92 procent. NaCl-Lös.	5446	4768	vacat

speciell konnte schon jetzt die organische Bindung der Salze vermittelst der elektrischen Leitfähigkeit festgestellt werden. Aber auch hinsichtlich der in den Gewebsspalten wuchernden Bakterien lässt sich annehmen, dass in der Zeiteinheit die Möglichkeit der Salzaufnahme eine geringere ist als wenn sie frei im Blut, Eiter oder Exsudaten sich befinden. Je nach dem werden also manche Bakterien bei Uebertragung auf unsere Nährböden einer Drucksteigerung begegnen. Diejenigen nun, bei denen der physiologische Chemismus die schnelle Bildung osmotisch wirksamer Stoffwechselproducte ermöglicht, werden sich an die neuen Verhältnisse bald gewöhnen. Bei denen aber wird das auf Schwierigkeiten stossen, die, wie z. B. die Tuberkelbacillen, sehr viel osmotisch indifferentes Material (Wachse) in sich produciren. In der That wachsen dieselben auf unseren üblichen Nährböden trotz ihrer in mancher Hinsicht grossen Anspruchslosigkeit nicht aus; es bedarf dazu erst eines Glycerinzusatzes. Die Rolle des Glycerins denke ich mir nun so, dass es bei seiner grossen Penetrationsfähigkeit der bakteriellen Membran für die Equilibrirung des Druckes eine Rolle spielt. Wäre das der Fall, so müssten sich Tuberkelbacillen auf salzärmerem Agar ohne Glycerinzusatz züchten lassen. In der That ist mir das bei einer Cultur, wo ich den Versuch machte, ohne Schwierigkeit gelungen.



Das Dialysat stellte also, wie das auch **Jetter** gefunden hatte, eine stark baktericid wirkende Flüssigkeit dar. Dies änderte sich jedoch sofort, nachdem die alkalische Reaction beseitigt war. Die Titration ergab, dass dieselbe einer Sodalösung von 0.045 Procent entsprach. Wurde eine solche Sodamenge einer Kochsalzlösung zugesetzt, so gewann dieselbe gleichfalls stark baktericide Eigenschaften.

X. Milzbrandstammcultur.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Dialysat	8 823	14	0
Neutralisirt	10 062	5319	2463
0·92 Procent NaCl + 0·045 Proc. Soda	9 782	0	0
0·92 Procent NaCl	9 879	5360	vacat

Die Wirkung der Alkalien ist also in nährstofffreier Lösung eine sehr intensive. Wollte man die baktericide Wirkung des Serums mit anorganischen Substanzen in Verbindung bringen, so wäre es jedenfalls viel richtiger, sie auf die Alkalien zu beziehen, die im Serum mindestens einer 0·1—0·2 procent. Sodalösung, im Blute gar einer doppelt so starken entsprechen. Im Serum wirkt jedoch auch eine so hohe Alkalescenz an sich nicht baktericid, wie wir später sehen werden.

Nachdem ich mich so über die Wirkung von Salzlösungen auf meine Bakterienstämme informirt hatte, konnte mit den Serumversuchen begonnen werden. Während wir es nun bei den Salzen mit genau dosirbaren Substanzen zu thun haben, stellt das Blutserum eine Flüssigkeit dar, deren Zusammensetzung in verschiedenster Richtung Schwankungen unterworfen ist. Zum Theil reichen dieselben schon an die Erkennbarkeit mit unseren bisherigen chemischen und physikalischen Methoden heran. Einen tieferen Einblick eröffnen uns aber erst die neuen Versuche, die auf ganz anderer Grundlage von **Pfeiffer**, **Bordet**, sowie namentlich von **Ehrlich** und seinen Schülern begonnen sind. In der Hauptsache sind das ja allerdings noch Differenzen im Blutserum verschiedener Thierarten, aber auch zwischen den Individuen derselben Art haben sich schon manche Unterschiede ergeben. Ganz a priori ist ja auch zu erwarten, dass innerhalb derselben Art je nach Alter, Ernährungszustand und anderen uns noch unbekannten Verhältnissen Unterschiede vorkommen müssen. Ich bemerke das nur, weil sich noch immer Manche darüber zu verwundern scheinen, dass die Versuche mit Serum nicht immer gleichmässig ausfallen und dass die Angaben der Autoren in quantitativer Beziehung hier vielfach aus einander



gehen. Auch verschiedene Portionen desselben Serums fand ich vielfach ungleichwerthig, so zwar, dass die Wirkung des ganz frischen Serums eine langsamer eintretende war. Weiter kommt die Behandlung des aus der Ader gelassenen Blutes in Betracht, wie es aufbewahrt wird u. s. w. Ich habe hier für alle Versuche den gleichen Modus bewahrt. Das bei kleinen Thieren der Carotis entnommene Blut wurde zunächst bis zum völligen Festwerden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und kam sodann in den Eisschrank. Das Abgiessen des Serums erfolgte 24 Stunden nach der Blutentnahme. Bei grösseren Thieren (Pferden) wurde das Serum vermittelst Troicarts aus einer Halsvene genommen und im Uebrigen in der gleichen Weise behandelt. Zur Prüfung wurde kein Serum benutzt, das älter als 5 Tage gewesen wäre. Bei allen Versuchen wurde mit dem gleichen Material und unter den gleichen Bedingungen zugleich das Verhalten gegen eine Kochsalzlösung von 0·92 Procent geprüft. Es ergaben sich so zunächst folgende Tabellen.

XI. Milzbrandstammcultur.
Spärliche Aussaat.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunden	6 Stunden	20 Stunden
Kaninchenserum . . .	168	0	0
0·92 proc. NaCl-Lösung	224	68	0

XII. Milzbrandstammcultur.
Reichlichere Aussaat.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunden	6 Stunden	20 Stunden
Kaninchenserum . . .	3024	16	0
0·92 proc. NaCl-Lösung	5048	6037	3564

XIII. Milzbrandstammcultur.
Reichliche Aussaat.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunden	6 Stunden	20 Stunden
Kaninchenserum . . .	637	23	0
0·92 proc. NaCl-Lösung	8328	4896	3822

XIV. Typhusstammcultur.
Spärliche Aussaat.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunden	6 Stunden	20 Stunden
Kaninchenserum . . .	468	0	0
0·92 proc. NaCl-Lösung	753	128	1476

XV. Typhusstammcultur

Reichlichere Aussaat.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	20 Stunden
Kaninchenserum . . .	14 949	15	0
0·92 proc. NaCl-Lösung	42 248	31 428	unzählig

XVI. Typhusstammcultur.

Reichliche Aussaat.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	20 Stunden
Kaninchenserum . . .	81 496	31 274	unzählig
0·92 proc. NaCl-Lösung	95 786	124 128	„

Ein Blick auf diese Tabellen ergiebt, dass die bactericide Wirkung von Salzlösungen nur bei geringer Aussaat sich mit der des Blutserums vergleichen lässt. Impfen wir reichlicher, so wird der Unterschied überaus deutlich; es tritt dann die Keimverminderung durch Salzlösung der Serumwirkung gegenüber völlig in den Hintergrund. Auf ein eigenthümlich proportionales Verhalten von Einsaat und Abtödtung, das aber in diesen Tabellen nicht hervortritt, haben v. Szekely und Zahna (52) zuerst aufmerksam gemacht. Dieselben beobachteten, dass bei Einwirkung desselben Serums auf verschieden grosse Bakterienmengen die Keimzahl in dem einen Fall beispielsweise von 30000 auf 10000 herunterging, während sie im anderen bei einer Aussaat von 10000 Keimen nur auf 3000 reducirt wurde. Das Serum hatte also das eine Mal 20000 Keime, das andere Mal nur 7000 abgetödtet. Gerade auch auf Grund solcher Beobachtungen sind mehrfach Einwendungen gegen die Alexintheorie erhoben. Fischer erklärt geradezu eine solche procentuale Abtödtung für unvereinbar mit der Wirkung eines Enzymes oder Bakteriengiftes. Man kann hiergegen geltend machen, dass in jedem Aussaatmateriale, auch wenn die Cultur mit allen Cautelen behandelt war, sich ein gewisser Procentsatz von Individuen mit herabgesetzter Widerstandsfähigkeit befindet, die dann leichter irgend einer Schädigung als die übrigen erliegen. Ich selbst habe aber auch eine procentuale Abtödtung nur bei weniger wirksamen Sera oder gegenüber solchen Bakterien gefunden, gegen die das Serum überhaupt nur eine geringe bactericide Kraft entfaltet (Staphylokokken). Hier beruht dann die durch die Zählplatte festgestellte Keimverminderung vielfach überhaupt nicht auf Abtödtung, sondern auf Agglutination.

Der Bedeutung der Agglutination für die Resultate mit dem Plattenverfahren hatte ich schon kurz gedacht. Soweit die Milzbrandbacillen in Frage kamen, konnte ich dieselbe durch die mikroskopische Untersuchung in jedem einzelnen Falle ausschliessen. Gegenüber den Typhusbacillen verhalten sich dagegen die verschiedenen Sera verschieden und es ist hier in einzelnen Fällen der Agglutination ein gewisser Antheil an der „Keimverminderung“ nicht abzusprechen.

Fischer hat aber noch Bedenken ganz anderer Art gegen die Beweiskraft des Plattenverfahrens vorgebracht. Nach dessen Vorstellung ist der Uebergang vom Serum zum Agar nicht weniger mörderisch für die Bakterien als der umgekehrte Weg. Im Serum beladen sich dieselben mit Salz, der Innendruck steigt, wird aber vor der Hand noch ertragen, da der hohe Salzdruck des Serums compensirend wirkt. Erfolgt aber nun der Uebergang in den salzärmeren Agar, so wird der Innendruck so emporschnellen müssen, dass die Zelle platzt. Es ist nun nicht leicht, diesem Uebelstande zu begegnen. Wählen wir einen Agar mit einem Salzgehalt = 0·92 Procent Kochsalz, der also dem Salzdrucke des Serums entspricht, so wird Fischer in Consequenz seiner Ausführungen geltend machen, dass jetzt die Bakterien zu Grunde gehen, weil sie sich immer weiter mit Salz beladen müssen. Bei dem gewöhnlichen Agar ist wiederum der Druck zu gering; am geeignetsten müsste also wohl ein Salzgehalt sein entsprechend 0·79 Procent Kochsalz. Offensichtlich müssten sich ja nun diese osmotischen Störungen bei Uebertragung auf Agar in derselben Weise geltend machen, gleichviel ob das Bakterium in Serum oder einer entsprechenden Salzlösung geweilt hat, es müssten also die baktericiden Wirkungen beider gleich oder wenigstens annähernd gleich sein. Das ist, wie die Tabellen zeigen, nicht der Fall, gleichwohl habe ich auf diesen Einwand eingehen zu müssen geglaubt und bin dabei in folgender Weise vorgegangen. Milzbrandbacillen, die auf 0·92 procent. Salzagar und solche, die auf 0·67 procentigen gewachsen waren, wurden auf Blutserum und auf 0·92 procent. Kochsalzlösung übertragen und sodann wieder die Keimzahlen in bestimmten Zeiträumen auf Agar von 0·66, 0·79, 0·92 Procent Salzgehalt festgestellt. Spielten wirklich geringe Differenzen im Salzgehalte der Nährböden bei derartigen Versuchen die Rolle, die ihnen Fischer zuschreibt, so müssten sich wesentliche Unterschiede in den Keimzahlen hier ergeben. (Tabelle XVII.)

Weiter habe ich versucht, den Einfluss der osmotischen Störung, die durch die Druckdifferenz von Serum und Agar bedingt sein soll, dadurch aufzuheben, dass ein ganz allmählicher Ausgleich ermöglicht wurde. Ich habe deshalb vom Serum bezw. der 0·92 procent. Kochsalzlösung zunächst in $^1/_2$ ccm 0·79 procent. Kochsalzlösung verimpft und erst nach Verlauf



einer halben Stunde diese ganze Mischung auf den Agar mit 0·67 Procent Salzgehalt übertragen. Aber auch hier blieb das Serum eben so baktericid wie in den früheren Versuchen.

XVII. Milzbrandstammcultur.

(Bei Abimpfung von 0·92 Procent Agar wurden die Keime in 0·92 proc. NaCl-Lösung suspendirt.)

Abimpfung von Agar mit Salzgehalt	Substrat	Aussaat auf Agar mit Salzgehalt Procent	Keimzahl nach 0 Stunde	Keimzahl nach 6 Stunden
0·67 Procent	2 ccm Kaninchenserum	0·67	6 037	5
„		0·79	5 919	6
„		0·92	5 319	7
0·92 Procent	2 ccm Kaninchenserum	0·67	2 457	6
„		0·79	2 074	8
„		0·92	2 019	13
0·67 Procent	0·67 proc. NaCl-Lös.	0·67	15 440	unzählig
„		0·79	16 929	„
„		0·92	14 310	„
0·92 Procent	0·92 proc. NaCl-Lös.	0·67	15 427	18 838
„		0·79	15 596	18 673
„		0·92	13 718	18 447

Was sich hier von der Bedeutung der osmotischen Störung sagen liess, gilt in derselben Weise von der nutritiven, die dadurch gegeben sein soll, dass die Bakterien von einem leicht assimilirbares Nährmaterial enthaltenden Medium auf das nur hochmolekulares Eiweiss enthaltende Serum übertragen werden. Denys und Kaisin (62) haben nun schon früher gezeigt, dass die baktericide Wirkung des Serums dieselbe bleibt, gleichviel ob die Impfung von einer Serumcultur oder von Agar aus erfolgt. Fischer giebt sich aber hiermit noch nicht zufrieden; er macht jetzt geltend, dass die Keimabnahme mit der Uebertragung von Serum auf den Agar zusammenhinge — für die an das Serumeiweiss gewöhnten Bakterien sei jetzt der Agar nutritiv unzureichend. Das stimmt schon mit Fischer's eigenen Anschauungen nicht. Nach diesen befinden sich die Bakterien im Serum in einem Hungerzustande, können sich also unmöglich hier an einen Nährstoff gewöhnen. Auch das Experiment ergiebt die volle Haltlosigkeit des Einwandes. Ich habe Milzbrandbacillen, die drei Mal durch Pferdeserum geschickt waren, auf actives Serum übertragen und sodann auf Platten mit erstarrtem Pferdeserum ausgestrichen. Die Zählung der Colonieen ist ja hierbei erschwert, aber soviel liess sich auch hier feststellen, dass die Keimabnahme nicht weniger vollständig



war, als wenn Agar benutzt wäre. Baumgarten (46) behauptet nun allerdings, dass es Walz gelungen sei, durch Züchtung des Milzbrandes auf Serum die baktericide Kraft zum Schwinden zu bringen. Das möchte ich gar nicht bestreiten, halte es sogar für durchaus wahrscheinlich, dass es durch consequente Cultivirung eines Bacteriums auf einer bestimmten Serumart gelingt, dies Bacterium gegen dies Serum gewissermaassen zu immunisiren. Als Gegenbeweis gegen die Existenz irgend eines Giftstoffes im Serum wäre aber diese Beobachtung in keiner Weise zu verwerthen.

Fischer rechnet aber weiter mit der Möglichkeit, dass der Salzdruck im Serum unter Umständen höher werden und damit die Wirkung auf Bakterien verstärkt werden könnte. Eine Erhöhung der baktericiden Kraft verspricht er sich z. B. auch vom spontanen Eintrocknen. Dem widersprechen schon die übereinstimmenden Angaben der Bakteriologen, dass das Blutserum durch längeres Stehen, wie es doch zu einer stärkeren Concentrirung erforderlich ist, unwirksam wird. Ich habe jedoch den Punkt einer besonderen Prüfung unterzogen und zwar in der Weise, dass ich frisches (24stündiges) Serum bei 15° C. im Vacuum auf die Hälfte einengte (Dauer der Procedur 6—12 Stunden) und dann die Wirkung des so eingeengten Serums mit der desselben Serums im nicht eingeengten Zustande verglich.

XVIII. Milzbrandstammcultur.
Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	20 Stunden
Kaninchenserum	336	10	2
Kaninchenserum eingeengt (2 ccm auf 1 ccm)	425	35	6
0·92 procentige NaCl-Lösung	1478	1223	784

XIX. Milzbrandstammcultur.
Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	20 Stunden
Kaninchenserum	227	13	2
Kaninchenserum eingeengt (2 ccm auf 1 ccm)	290	78	8
0·92 Procent NaCl-Lösung	295	280	18



XX. Milzbrandstammcultur.
Pferdeserum.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	20 Stunden
Pferdeserum	0	15	0
Pferdeserum eingeengt (2 ccm auf 1 ccm) .	65	618	1034
0·92 procentige NaCl-Lösung	3475	2864	vacat

In einem vierten Versuche wurde das eingeengte Serum durch Zusatz von destillirtem Wasser wieder auf das ursprüngliche Volum gebracht. Es ergaben sich dann folgende Zahlen.

XXI. Milzbrandstammcultur.
Pferdeserum.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Pferdeserum	3564	11	0
Pferdeserum eingeengt (2 ccm auf 1 ccm) .	6608	560	784
Eingeengtes Serum + destillirtes Wasser	6037	12	0

Im folgenden Versuche habe ich die durch Dialyse gewonnenen Blutsalze dem Serum zugesetzt und zwar in einem Verhältniss von 1 Procent. Ein solches Serum wäre also mehr als doppelt so salzhaltig als ein gewöhnliches. Ich zeigte früher, dass die Blutsalze im nicht neutralisirten Zustande ziemlich stark baktericid wirkten.

XXII. Milzbrandstammcultur.
Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Kaninchenserum	2457	1	0
Kaninchenserum + 1 Procent Blutsalze	5734	3276	1876
0·92 procentige NaCl-Lösung	5669	6543	vacat

Wir sehen also, dass entgegen der Fischer'schen Annahme das Blutserum durch Erhöhung des Salzgehaltes — gleichviel ob dieselbe durch Einengen oder durch Zusatz von Blutsalzen geschieht — nicht wirksamer wird, sondern im Gegentheil an Wirksamkeit beträchtlich verliert. Es zeigte sich weiter, dass durch Verdünnung solchen concentrirten Serums — also durch Herabsetzung des Salzgehaltes — die baktericide



Kraft wieder hergestellt wurde. Nach Ansicht derer, die besondere baktericide Substanzen im Serum nicht anerkennen wollen, sind es der hohe Salzdruck sowie die Ungunst der ganzen Ernährungsbedingungen im Serum, vor allem die durch Mangel an proteolytischen Enzymen bedingte Schwierigkeit in der Assimilation der Nährstoffe, die auf die Keimverminderung hinwirken. Im eingeengten oder in dem mit Blutsalzen versetzten Serum haben wir nun einen erhöhten Salzdruck und für die Ernährung in Folge der sehr hohen Conzentration der Eiweisskörper eher ungünstigere Bedingungen, und doch bleibt der Keimgehalt hier höher als in dem nicht weiter behandelten Serum.

Schon der Versuch mit dem Zusatz von Blutsalzen zum Serum musste zeigen, worin der Grund für die Herabsetzung der keimvermindernden Wirkung lag. Er konnte nur in der Erhöhung des Salzgehaltes zu suchen sein.[1] Es musste nun festgestellt werden, wie sich andere Salze, vor allem auch das Kochsalz, nach der Richtung verhielten. Ich habe also Kochsalz in steigenden Mengen dem Serum zugesetzt und dann die baktericide Kraft des salzhaltigen Serums mit der des ursprünglichen, sowie mit gleichstarker Kochsalzlösung verglichen.

XXIII. Milzbrandstammcultur.
Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Kaninchenserum	1 123	0	17
„ + 1 Procent NaCl	6 553	190	336
„ + 5 „ „	8 600	8900	14 198
„ + 8·57 „ „	8 688	9354	4 914
0·92 procentige NaCl-Lösung	11 989	7840	vacat
1·92 „ „	10 885	0	0
5·92 „ „	9 100	0	0

XXIV. Typhusstammcultur.
Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Kaninchenserum	13 480	9	0
„ + 1 Procent NaCl	12 520	25	7
„ + 5 „ „	18 949	17 584	5461
„ + 8·57 „ „	12 778	10 297	5925
0·92 procentige NaCl-Lösung	20 124	13 718	3037
1·92 „ „	16 271	582 (?)	0
5·92 „ „	15 093	0	0
9·49 „ „	11 959	0	0

[1] Nissen hat schon früher die Beobachtung gemacht, dass das Plasma von Blut, das behufs Verhinderung der Gerinnung mit Magnesiumsulfat versetzt war, nicht baktericid wirkte.



Es kann nach diesen Versuchen keinem Zweifel unterliegen, dass eine Erhöhung des Salzgehaltes zu einer völligen Aufhebung der baktericiden Wirksamkeit des Blutserums gegenüber Milzbrand- und Typhusbacillen führt. Sehr anschaulich ergiebt sich das aber noch bei der Beobachtung von Cholerabacillen im Rattenserum.

Auf dies Experiment hat Fischer gerade besonderen Werth gelegt, da er in den hier erfolgenden Auflösungserscheinungen mit Sicherheit die durch Salzwirkung bedingte Plasmoptyse wieder zu erkennen glaubte.

Brachte ich nun Cholerabacillen in Rattenserum und beobachtete von vornherein in der Wärme, so zeigte sich auch bald das, was Fischer beschrieben hat. An einem oder beiden Polen der Vibrionen traten stärker lichtbrechende Körperchen auf, die sich deutlich von dem übrigen Protoplasma abhoben und mit der Zeit an immer zahlreicheren Individuen sichtbar wurden. Hierbei blieb zunächst der Contour der Bakterien unverändert. Weiterhin vergrösserten sich die lichtbrechenden Körperchen, und zugleich nahm die Membran ein gequollenes transparentes Aussehen an. Demnächst kam es zu einer Ablösung der Körperchen, die dann frei sich in der Flüssigkeit bewegten oder mit anderen in kurzen, kettenartigen Gebilden oder Häufchen zusammenlagerten. Der erste Act dieses Destructionsprocesses, die Bildung der stark lichtbrechenden Körperchen bei sonst erhaltener Configuration als Bacillus, hat, wie schon bemerkt, grosse Aehnlichkeit mit den in Salzlösungen zu beobachtenden Wirkungen osmotischer Drucksteigerung. Je weiter jedoch der Process fortschreitet, um so mehr verliert sich diese Aehnlichkeit, und das schliessliche Endresultat erschien kaum vergleichbar allem, was ich durch die Einwirkung der verschiedensten Salzconcentrationen auf Cholerabacillen erzielen konnte. Dass es sich aber hier in Wirklichkeit nicht um rein osmotische Vorgänge handelt, geht daraus hervor, dass sich der körnige Zerfall durch Zusatz von Salzen zum Serum merklich hemmen lässt. Setzt man zu einem Rattenserum 2 Procent Kochsalz hinzu, so kommt es auch hier zur Bildung von zahlreichen Köpfchenbacillen, die weitere Auflösung aber unterbleibt, wenigstens bis zu einer Stunde. Der Contour bleibt unverändert, von einer Granulabildung ist nichts zu sehen. Streicht man weiter einen reichlich mit Cholerabacillen geimpften Tropfen Rattenserum nach $^3/_4$ Stunde auf Agar aus, so erweist sich alles als abgetödtet. War derselbe mit Salzzusatz versehen, so erhält man eine üppige Cultur.

Ausser mit Kochsalz habe ich in analoger Weise Versuche gemacht mit Kaliumnitrat, Dikaliumphosphat, schwefelsaurem Natron, Ammoniumsulphat und Calciumchlorid. Alle diese Substanzen mit Ausnahme von Ammoniumsulphat und Calciumchlorid, die stärker wirksam waren, hatten



bei einem Zusatz von 1 Procent noch keine deutliche Wirkung. Bei 2 Procent wirkten sie durchschnittlich so stark wie das Kochsalz.

Gleichfalls gut mikroskopisch verfolgbar ist die Auflösung der Colibacillen im Taubenserum, die Kraus und Clairmont genauer beschrieben haben. Auch dieser Vorgang zeigt nur Anfangs Aehnlichkeit mit osmotischen Störungen und wird gleichfalls durch geeigneten Salzzusatz (der hier nach meinen Versuchen etwas höher sein muss) deutlich gehemmt. Einen etwas anderen Charakter tragen die Destructionsprocesse, denen die Milzbrandbacillen in manchen Serumarten erliegen, und die von Nuttall und Sawtschenko schon beschrieben sind. Auch hier kommt es im Rattenserum, allerdings erst nach mehrstündiger Einwirkung bei Brüttemperatur, zur Bildung von stark lichtbrechenden Kügelchen innerhalb des Bacillus, während die Membran transparent wird und einen unregelmässigen Contour annimmt, bei dem Ausbuchtungen und Einziehungen abwechseln. Das Bild ist bei verschiedenen Bacillen häufig recht verschieden; einige zerfallen, andere scheinen, auch indem sie immer mehr verblassen, in toto zu verschwinden.

Ein Ueberblick über alle diese Resultate muss ergeben, dass dieselben mit der Vorstellung osmotisch-nutritiver Störungen als Ursache der bakterіciden Wirkung des Serums nicht in Einklang zu bringen sind. Sehen wir aber von dieser ab, so passt alles durchaus in den Rahmen dessen, was wir bisher über die Natur der Alexinsubstanzen wussten und annahmen. Nuttall, der zuerst die Vermuthung ausgesprochen hat, dass es sich hier um Fermentkörper handele, wurde hierzu gedrängt durch die gleichfalls von ihm gemachten Beobachtungen über die grosse Empfindlichkeit dieser Substanzen gegen allerlei Eingriffe, speciell gegen Erwärmung. Zur Zeit sind wir in der Lage, die zwischen den Alexinen und Fermenten bestehenden Beziehungen viel vollständiger zu übersehen. Hier interessirt uns zunächst das ganz analoge Verhalten gegen Salze.

Schon seit Längerem ist bekannt, dass der Ablauf fermentativer Processe in einer gewissen Abhängigkeit steht von der Anwesenheit von Neutralsalzen, so zwar, dass ein gewisser Gehalt daran die Fermentwirkung begünstigt, dass aber, wenn dies Optimum überschritten wird, umgekehrt eine Schwächung derselben eintritt. Das hat sich in gleicher Weise für das Fibrinferment (A. Schmidt) ergeben, wie für die Verdauungsfermente (Nasse), wie auch schliesslich für die invertirenden pflanzlichen Fermente. Weiter wurde in neuerer Zeit von Biernacki (15) nachgewiesen, dass verschiedene Salze, in gewisser Concentration den Fermenten zugesetzt, dieselben gegen die Einwirkung höherer Temperaturen widerstandsfähiger zu machen vermögen, und dass dies dieselben Salze sind, die die Fermente in concentrirter Lösung fällen. Nach den Hof-



meister'schen (8) Versuchen über die Wirkung der Salze würden sich diese Resultate erklären durch die wasseranziehende Fähigkeit der Salzmolecüle. Es wäre danach ein gewisser Wassergehalt für die Function des Fermentkörpers nothwendig; wird derselbe über ein gewisses Maass durch die Anwesenheit von Salzen herabgesetzt, so wird die Wirkung verlangsamt, zugleich aber gewinnt das in seiner Labilität beschränkte Fermentmolecül an Widerstandsfähigkeit gegenüber schädigenden Eingriffen. Wie dem aber auch sei, jedenfalls liegen die Verhältnisse bei den Alexinen durchaus ähnlich. Von Buchner (34, 35) wurde nachgewiesen, dass nach Entfernung der Salze durch Dialyse die Wirksamkeit der Alexine suspendirt wird, dass sie aber wieder einsetzt, sobald entsprechende Salzmengen zugegeben sind. Buchner zeigte weiter, dass ein gewisser Salzgehalt, analog den Angaben Biernacki's, die Alexine gegen die Einwirkung der Wärme erheblich zu schützen vermag. Meine Versuche schliesslich vervollständigen die Analogie, indem sie zeigen, dass bei Ueberschreitung eines gewissen Optimums des Salzgehaltes, das in der vorhandenen Salzconcentration des Blutes gegeben ist, die Alexinwirkung geschwächt oder ganz aufgehoben wird.

Weitere Untersuchungen haben nun gezeigt, dass das Alexin eines bestimmten Serums von verschiedenen Salzen graduell ganz verschieden beeinflusst wird. Es wurden in dieser Hinsicht geprüft Kaliumchlorid, Magnesiumsulphat, Ammoniumsulphat, Kaliumnitrat[1], Natriumnitrat, Calciumchlorid. Ich gebe hier eine Tabelle, die die Wirkungen einiger in der Beziehung besonders differenter Salze veranschaulicht.

XXV. Milzbrandstammcultur.
Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach 0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Kaninchenserum	240	0	0
„ + 0·5 Procent KNO_3 .	1 677	9	0
„ + 2·5 „ „ . .	3 354	280	280
„ + 0·4 „ $CaCl_2$ . .	10 375	1176	280 (?)
„ + 2·05 „ „ . .	8 385	6708	6553
„ + 0·5 „ $(NH_4)_2SO_4$	8 191	2236	561
„ + 2·5 „ „ .	10 062	5031	8191
„ + 0·3 „ NaCl . .	280	0	0
„ + 1·5 „ „ . .	3 267	1018	448
0·92 procentige NaCl-Lösung	10 565	7099	8385

[1] In einer kleinen Mittheilung aus dem Tübinger pathologischen Institute, die nach Abschluss meiner diesbezüglichen Versuche im *Centralblatt für Bakteriologie* erschien, findet sich unter Anderem die Angabe, dass Zusatz von Kaliumnitrat die



Am wenigsten wirksam war also Kaliumnitrat, sehr wirksam dagegen erwiesen sich Calciumchlorid und Ammoniumsulphat. Aehnlich dem letzteren verhielt sich auch Magnesiumsulphat, während Kaliumchlorid sich dem Kochsalz näherte. Vergleichen wir mit diesen Ergebnissen die Buchner'schen Versuchsresultate, so zeigt sich, dass dieselben Salze, die hier einen hemmenden Einfluss auf die Alexinwirkung ausübten, zugleich im besonderen Grade dort befähigt waren, die Alexine gegen den Einfluss höherer Temperaturgrade zu schützen.

Ausser den Salzen der Alkalien und Erden habe ich dann noch eine Reihe anderer Substanzen auf ihre alexinhemmende Wirkung untersucht. Es ergab sich hier unter Anderem die auf den ersten Blick überraschende Thatsache, dass manche, sonst als Antiseptika betrachtete, Stoffe im activen Serum auf die Bakterien conservirend wirken. Zusätze von Eisensulphat im Verhältniss von 1:2000 bis 1:1000, von Alaun im Verhältniss von 1:1500 liessen die Wirkung von Kaninchenserum auf Milzbrandbacillen nicht unerheblich herabgehen. Gleich stark wirkte auch Tannin bei dem gleichen Procentgehalt, während Alkohol im Verhältniss von 1:1000 bis 1:500 eher die baktericide Kraft zu steigern schien. Ich halte es für durchaus möglich, dass ein weiteres Studium nach der Richtung auch praktisch ganz werthvolle Fingerzeige für die Verwendung antiseptischer Mittel geben kann.

Wie ich oben schon kurz andeutete, ist die Wirkung eines Salzes auf verschiedene Fermente nicht die gleiche. So wird die Labgerinnung nach A. Schmidt (10) schon durch so kleine Zusätze von Kochsalz erheblich beeinträchtigt, die für andere Fermentationen noch begünstigend wirken. Besonders eingehend hat sich mit diesen Fragen Nasse (11) beschäftigt. Im Verlaufe seiner sehr zahlreichen Untersuchungen konnte er ausserordentliche Verschiedenheiten in der Beeinflussung einer Fermentation durch verschiedene Salze feststellen. Unter anderem ergab sich, dass die Invertirung des Rohrzuckers schon durch sehr kleine Mengen Kaliumchlorid gehemmt wurde, während die Ammoniaksalze bei gleicher Concentration begünstigend wirkten. Aehnlich wie Kaliumchlorid verhielten sich auch 4 procentige Lösungen von Kochsalz und Natriumsulphat. Pankreasferment und Speichel wurden durch die gleichen Salzmengen, besonders aber durch Ammoniaksalze, günstig beeinflusst.

---

baktericide Wirkung des Serums gegenüber Typhusbacillen aufhebt. Weitere Schlüsse aus seinen Versuchsergebnissen hat sich der Autor für eine spätere Mittheilung vorbehalten. Ich schliesse nur aus der Bezeichnung des Kaliumnitrates „als Nährsalzes" für Typhusbacillen, dass die Wirkung hier auch auf die verbesserten Ernährungsbedingungen — also analog der Peptonwirkung — gedeutet werden soll. Eine solche Interpretation der Salzwirkung kann nach den mitgetheilten Versuchen nicht als zulässig erachtet werden.



Untersuchte ich nun in analoger Weise das Blutserum verschiedener Thierarten gegenüber verschiedenen Bakterien, so ergaben sich auch hier einige deutlich merkbare Unterschiede. Immer wird allerdings hierbei berücksichtigt werden müssen, dass die Dosirung eine sehr wesentliche Rolle spielt, indem es in sehr vielen Fällen nur auf diese ankommt, ob eine Substanz begünstigend oder hemmend wirkt.

Ausser den Salzen und Alkaloiden, welch letztere Nasse auch noch zu seinen Versuchen herangezogen hatte, habe ich später noch eine Reihe von Eingriffen kennen gelernt, die sehr wesentlich die Alexinwirkung im günstigen und ungünstigen Sinne zu beeinflussen vermögen. Hierüber hoffe ich bald an anderer Stelle Näheres berichten zu können.

Eine wichtige Rolle spielt bei einer Reihe von Fermentationen ausser den Salzen und der Temperatur die Reaction des Mediums. Hinsichtlich der Alexine ist das von Buchner bestritten, während meine eigenen Versuche einen sehr deutlichen Einfluss erkennen liessen. Setzte ich dem Kaninchenserum so viel Essigsäure zu, dass mit Lackmus keine alkalische Reaction mehr zu erkennen war, so sank die baktericide Wirkung derselben gegenüber Milzbrandbacillen in einer Reihe der Fälle auf 0, in den übrigen erwies sie sich als erheblich geschwächt. War der Säurezusatz ein geringerer, so blieb sie entsprechend erhalten. Keinerlei Einfluss zeigte sich, wenn nach der Säure eine äquivalente Menge Alkali zugegeben wurde.

XXVI. Milzbrandstammcultur.
Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach 0 Stunde	Keimzahl nach 6 Stunden
Kaninchenserum	6 139	68
„ + 0·13 Procent $C_2H_4O_2$	14 950	13 106
„ + 0·13 Proc. $C_2H_4O_2$ + 0·11 Proc. Na_2CO_3	5 834	84
0·92 procentige NaCl-Lösung	13 416	6 204

XXVII. Milzbrandstammcultur.
Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach 0 Stunde	Keimzahl nach 6 Stunden
Kaninchenserum	5 476	110
„ + 0·13 Procent $C_2H_4O_2$	15 120	13 652
„ + 0·13 „ „ + 0·11 Na_2CO_3	6 278	84
„ + 0·08 „ „	8 764	829
0·92 procentige NaCl-Lösung	15 768	8 947



Dass die Alkalescenz an sich nicht die Ursache der baktericiden Wirkung im Serum ist, geht unter Anderem aus den früher mitgetheilten Versuchen über die abtödtenden Eigenschaften der alkalischen Blutsalze hervor. Wenn ich kurz recapitulire, so ergab sich, dass in nährstofffreien Salzlösungen ein geringer Alkaligehalt eine energisch baktericide Wirkung ausübt, nicht aber im Serum, dass hier vielmehr eine Herabsetzung derselben trotz Erhöhung der Alkalescenz eintritt, wenn zugleich die Concentration der Neutralsalze erhöht wird. Kurz — wird die Wirkung des Alexins gehemmt, so vermag ein Plus von Alkali die baktericide Kraft nicht zu verstärken. Ich werde hierauf noch einmal zurückkommen, hier möchte ich nur kurz erwähnen, dass gerade in der ersten Periode der Serumforschung die Alkalescenz eine grosse Rolle gespielt hat, allerdings in einem anderen als dem hier gekennzeichneten Sinne. Namentlich Behring (39), der viele Versuche nach dieser Richtung angestellt hat, wollte die Immunität der weissen Ratten gegen Milzbrand auf den hohen Alkaligehalt des Rattenserums zurückführen, auch bei anderen Thierarten glaubte er Unterschiede in der Alkalescenz ihrer Sera gefunden zu haben, die ihn auf Beziehungen zur natürlichen angeborenen Immunität schliessen liessen. Es sollte sich hierbei aber nicht um einen indirecten Einfluss des Alkalis auf irgend einen anderen wirksamen Körper handeln, sondern vielmehr um eine direct baktericide Wirkung der Alkalien oder besonderer baktericider basischer Körper. Ergänzend mögen auch hier die Beziehungen noch Platz finden, die zwischen der Reaction des Serums und den Erfolgen der Erhitzung sich feststellen liessen. Bekanntlich soll Serum durch eine $^1/_2$- bis 1stündige Erwärmung auf 55° C. seine baktericide Kraft verlieren, das stimmt für Kaninchenserum und gegenüber Milzbrandbacillen nicht immer, Walz berichtet sogar, dass ihm die Inactivirung in keinem einzigen Falle gelungen sei. Hier handelt es sich wohl um einen Zufall, als Thatsache aber konnte ich auch constatiren, dass manches Kaninchenserum sogar 1stündiges Erhitzen auf 60° C. verträgt und erst nach doppelt so langer Zeit unwirksam wird. Wird jedoch das Serum nach vorhergehender Neutralisirung der Erwärmung ausgesetzt, so geben auch niedrigere Temperaturen (55° C.) bei kurzer Einwirkung schon einen deutlichen Erfolg (Tabellen XXVIII und XXIX).

Vergleichen wir nun auch diese Resultate mit dem, was wir über die übrigen Fermente wissen, so ergeben sich auch hier interessante Analogieen. Biernacki konnte in seinen schon mehrfach erwähnten Versuchen mit Verdauungsfermenten feststellen, dass ceteris paribus ein Ferment bei der Reaction gegenüber einer schädigenden Temperatur am widerstandsfähigsten ist, bei der es seine beste Wirkung entfaltet. Es vertrug also Pepsin bei saurer, Trypsin bei alkalischer Reaction am besten die Erhitzung.



XXVIII. Milzbrandstammcultur. Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach 0 Stunde	Keimzahl nach 6 Stunden
Kaninchenserum	15	0
„ erhitzt 1/2 Stunde auf 55° C.	672	1
„ erhitzt 1 1/2 Stunde auf 60° C.	6384	4576
„ neutral erhitzt 1/2 Stunde auf 55° C.	2998	84
„ „ „ „ „ + 0·14 Procent Na_2Co	867	96
„ neutral	5734	1243
0·92 procentige NaCl-Lösung	6716	5319

XXIX. Milzbrandstammcultur. Kaninchenserum.

Substrat	Keimzahl nach 0 Stunde	Keimzahl nach 6 Stunden
Kaninchenserum	10	0
„ erhitzt 3/4 Stunde auf 60° C.	6546	10
„ neutral erhitzt 3/4 Stunde auf 60° C.	6701	6697
„ neutral	5701	224
0·92 procentige NaCl-Lösung	6878	10 621

Die Alkalescenz des Serums ist nun aber nicht gegenüber allen Bakterien eine wesentliche Bedingung für die Wirksamkeit. Prüfen wir Kaninchenserum anstatt gegen Milzbrandbacillen gegen Typhusbacillen, so zeigt sich kein Unterschied zwischen dem neutralen und dem alkalischen Serum. In der folgenden Tabelle habe ich die Prüfungsresultate, die mit demselben Kaninchenserum bei Einwirkung auf Milzbrand- und Typhusbacillen gewonnen sind, zusammengestellt. Es sind dort die Wirkungen des unbehandelten, des erhitzten und des neutralisirten Serums gegenüber diesen beiden Bakterienarten verglichen.

XXX. Milzbrandstammcultur M.[1] Typhusstammcultur T. Kaninchenserum.

Substrat		Keimzahl nach 0 Stunde	Keimzahl nach 6 Stunden
Kaninchenserum	+ M.	10	0
„ erhitzt 3/4 Stunde auf 60° C.	+ M.	6 546	10
„ neutralisirt	+ M.	5 701	224
0·92 procentige NaCl-Lösung	+ M.	6 878	10 621
Kaninchenserum	+ T.	42 575	7 499
„ erhitzt 3/4 Stunde auf 60° C.	+ T.	45 655	36 697
„ neutralisirt	+ T.	46 559	6 236
0·92 procentige NaCl-Lösung	+ T.	48 492	53 330

[1] Die Zahlen über Milzbrand finden sich zum Teil schon in Tabelle XXIX.



Ganz allgemein darf man also die Alkalescenz nicht mit der Wirkung der Alexine in Verbindung bringen. Es ist vielmehr erforderlich, die Bedeutung der Reaction für jedes Serum und gegenüber der besonderen Bakterienart für sich festzustellen. Aber auch da, wo sich ein solcher Einfluss der Reaction auf die Alexinwirkung nachweisen lässt, wie bei dem Kaninchenserum gegenüber Milzbrandbacillen, wird man mit Schlüssen über die Bedeutung der Blutalkalescenz für die natürliche Immunität vorsichtig sein müssen. Der Zusammenhang zwischen dieser überhaupt und der Wirkung der Serumalexine ist heutigen Tages noch nicht geklärt, und man kann eigentlich zur Zeit nur so viel sagen, dass derselbe kein einfacher sein kann, da keine Proportionalität zwischen der Intensität der am extravasculären Serum beobachteten Alexinwirkung und der natürlichen Widerstandsfähigkeit existirt. Als sicher kann man nur annehmen, dass das Alexin bei der durch specifische Behandlung entstandenen Immunität in irgend einer Form, als Complement, in Verbindung mit dem specifischen Immunkörper die Immunität bedingt. Kurz erwähnt seien hier noch die Angaben von Fodor und Ribbert, die durch Zufuhr von kohlensaurem Natron verschiedene Infectionen des Kaninchens, dieser die Staphylokokkeninfection, jener die Milzbrandinfection, günstig beinflussen wollten. Fodor kam auf das kohlensaure Natron auf empirischem Wege bei systematischer Durchprüfung einer Reihe von Salzen. Ribbert dachte gleichfalls nicht an eine Beeinflussung der Alexine, sondern stellte sich vor, dass die Alkalien eine verstärkte Diurese und damit ein schnelleres Hinausschaffen der Toxine aus dem Körper bewirken sollten.

Aus den bisherigen Ausführungen ging hervor, dass wir mit einer Reihe von Eingriffen die baktericide Wirkung des Blutserums herabsetzen können, die weder die osmotische Anstrengung für die Bakterien vermindern noch die Compensirung der osmotischen Ueberanstrengung durch Zufuhr geeigneten Nährmateriales erleichtern. Die Wirkung aller dieser Eingriffe war nur verständlich, wenn wir uns ausser den Salzen ein baktericides Agens im Serum vorstellten, das mit den von Fermenten bekannten Eigenthümlichkeiten ausgestattet den Bakterienleib angriff. Nicht so klar für die Beurtheilung liegen zunächst die Verhältnisse, wenn wir die Serumwirkung durch Zusätze nährender Mittel paralysiren. Von diesen wissen wir, dass sie die Bakterien, sowohl gegen den Einfluss osmotischer Druckschwankungen wie den gelöster Noxen, in gewissen Grenzen schützen können. Welche Schädlichkeit hier unter Zuhülfenahme der Nährstoffe von dem Bakterienprotoplasma paralysirt wird, ist a priori nicht zu ersehen.



Ich will hier nicht auf die vielen nach der Richtung angestellten Versuche, welche Nährstoffe hier am geeignetsten sind, eingehen, sondern mich nur mit dem Peptonzusatze beschäftigen. Es ist bekannt, dass Pepton, auch in Bruchtheilen von Procenten dem Serum zugesetzt, für eine Reihe von Bakterien die baktericide Kraft aufhebt. Dies gilt aber nicht für das Kaninchen- und Pferdserum gegenüber dem Milzbrandbacillus. Derselbe wird in der Regel auch von einem peptonhaltigen, wenn sonst wirksamen Serum vernichtet. Auch dies Verhalten ist mit der Annahme osmotisch-nutritiver Störungen als Ursache der baktericiden Wirkung nicht vereinbar. Das ergiebt sich mit zwingender Nothwendigkeit daraus, dass auch eine erhebliche Erhöhung des osmotischen Druckes weder im erhitzten Serum noch in der Kochsalzlösung erhebliche Keimverminderung herbeiführt, wenn eine ungehinderte Ernährung ermöglicht ist.

XXXI. Milzbrandstammcultur.

Pferdeserum.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Pferdeserum	560	7	0
„ erhitzt 1 Stunde auf 60° C.	8385	8015	unzählig
„ dasselbe + 0·5 Proc. NaCl	8009	8385	„
„ „ + 3·0 „ „	8385	8737	„
„ „ + 5·0 „ „	7437	6037	vacat
0·92 procentige NaCl-Lösung	8551	5586	3822

XXXII. Milzbrandstammcultur.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
0·5 Procent Pepton + 0·92 Procent NaCl	7645	8385	11 468
0·5 „ „ + 1·92 „ „	6732	7999	8765
0·5 „ „ + 2·92 „ „	6708	6508	vacat
0·5 „ „ + 3·92 „ „	3199	8191	234
0·5 „ „ + 5·92 „ „	2184	2436	78

Prüfen wir nun eine grössere Anzahl von Sera mit Peptonzusatz durch, so stossen wir bald auf das eine und andere, bei dem doch durch das Pepton die baktericide Kraft gegen Milzbrand erheblich geschwächt wird (etwas herabgesetzt wird sie häufig). Der Grund, weshalb diese Schwächung nicht immer eintritt, leuchtet leicht ein, wenn man die Prüfungsresultate der beeinflussten Sera nebeneinander hält.

XXXIII. Milzbrandstammcultur.
Pferdeserum.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Pferdeserum	50	11	3
„ + 0·1 Procent Pepton . .	120	16	36
„ + 0·5 „ „ . .	224	4	5
„ + 1·0 „ „ . .	50	8	7
0·92 procentige NaCl-Lösung	8987	7501	vacat

XXXIV. Milzbrandstammcultur.
Pferdeserum.

Substrat	Keimzahl nach		
	0 Stunde	6 Stunden	24 Stunden
Pferdeserum	6037	11	1
„ + 0·1 Procent Pepton . .	7546	560	38
„ + 0·5 „ „ . .	8944	3354	3465
„ + 1·0 „ „ . .	7626	448	vacat
0·92 procentige NaCl-Lösung	8385	7632	„

Der Vergleich der beiden Tabellen zeigt, dass nach 6 Stunden die quantitative Leistung der beiden Sera gleich ist, dass aber bei dem einen schon die erste Platte eine gewaltige Herabsetzung der Keimzahl anzeigt, während bei dem anderen die Wirkung offenbar eine viel langsamere gewesen ist. Die Untersuchung ergab dann auch weiter, dass es wesentlich darauf ankommt, ob die Serumwirkung sehr plötzlich einsetzt oder nicht. Im letzteren Falle kann das Pepton eine grössere Anzahl von Keimen vor dem Untergange schützen.

Die Schnelligkeit, mit der das Serum wirkt, ist ausser von der Beschaffenheit desselben, noch von dem Culturstamm abhängig. Ich habe ausser meiner Stammcultur noch 2 verschiedene virulente Stämme geprüft, von denen der eine etwas langsamer, der andere gerade so schnell wie jene dem Serum erlag.

Es ist nun in der That nicht leicht, für eine solche Explosivität der Wirkung Analogieen zu finden. Von den äusserst empfindlichen Cholerabakterien wissen wir allerdings, dass sie in Medien, die uns bis dahin ganz harmlos erschienen, einen ganz gewaltigen Rückgang der Keimzahl erfahren können. Gotschlich und Weigang beobachteten, dass selbst in einer 24stündigen Agarcultur binnen wenigen Stunden die Keimzahl um 4 Millionen abnahm. Ficker fand bei vergleichsweiser Uebertragung von Cholerakeimen auf Kochsalzlösung und Bouillon ausserordentlich grosse Differenzen, die auf ein massenhaftes Absterben in der Kochsalzlösung schliessen liessen. Wie



ich aber eingangs schon bemerkte, besitzt der Milzbrandbacillus gar nicht diese Empfindlichkeit; ausserdem zeigt der stete Vergleich mit der 0.92 procentigen Kochsalzlösung, ein wie grosser Theil der Bakterien sich auch unter diesen relativ ungünstigen Umständen zu halten vermag. Wir wissen schliesslich aus den früher mitgetheilten Versuchen, die ich noch durch eine grosse Reihe anderer ergänzen könnte, dass selbst eine beträchtliche Erhöhung des Salzgehaltes des Mediums wenigstens auf eine kurze Zeit von der grössten Anzahl der Bakterienindividuen vertragen wird. Von osmotischen Störungen müssen wir also bei dieser Erklärung völlig absehen.

Aber auch bei Anerkennung der Fermentnatur des baktericiden Agens wird man schon nach Analogieen für eine solche Explosivität der Wirkung suchen müssen. Die Fermentation vollzieht sich im Allgemeinen auch viel langsamer, erst in den sogenannten katalytischen Vorgängen finden wir etwas Aehnliches vor. Das einzige Ferment, dem eine sehr plötzliche Wirkung eigen ist, ist das Labferment, das man aus diesem Grunde auch aus der Reihe der Fermente streichen wollte (Fick). Auch bei dieser Serumwirkung scheint es mir am wahrscheinlichsten, dass es sich hier um rapid eintretende Gerinnungsvorgänge handelt, und dass die gröberen Veränderungen, die wir an den Milzbrandbacillen mikroskopisch wahrnehmen, zum grossen Theil schon postmortale Erscheinungen sind.

Wie nun aber auch im Einzelnen diese plötzliche Wirkung zu erklären ist, jedenfalls leuchtet ein, dass die davon betroffenen Bakterien von einem Peptonzusatz keinen Vortheil haben können. Vollzieht sich die Wirkung dagegen allmählicher, handelt es sich zunächst nur um eine Schwächung, so würde die Mehrzahl der Individuen bei der schwierigen Assimilirbarkeit das Serumeiweiss auch noch zu Grunde gehen. Die Anwesenheit von Pepton vermag aber jetzt dadurch, dass sie für die geschwächten Bakterien die Bildung proteolytischer Enzyme unnöthig macht, ernährend zu wirken und den Protoblasten dadurch in den Stand zu setzen, sich durch Einleitung reactiver Vorgänge gegen die deletäre Noxe zu schützen. Es kommt also darauf an, dass die Bakterien Zeit gewinnen, und dies können wir künstlich bei den schnell wirkenden Sera durch einen kleinen Salzzusatz, der die Alexinwirkung hemmt, herbeiführen. Setzen wir also einem Serum ausser 0·3 Procent Pepton noch etwa 0·5 bis 1 Procent Kochsalz zu, so ist die Serumwirkung auch für Milzbrand aufgehoben. Bei denjenigen Bakterienarten, wo das Alexin überhaupt von Haus aus langsamer wirkt, ist der Salzzusatz nicht nothwendig. Gegenüber Typhusbacillen z. B., die nach Stunden gerade so erhebliche Abtödtungsziffern ergeben wie Milzbrandbacillen, aber doch nicht so plötzlich der Serumwirkung verfallen, erweist sich denn auch der Peptonzusatz stets wirksam.



Noch auf einen Punkt bliebe hier kurz einzugehen, und dieser betrifft die Thatsache, dass die Bakterien auch im activen Serum einen sehr hohen Salzdruck auszuhalten vermögen. Für das durch Erhitzen inactivirte Serum nehmen ja die Alexingegner an, dass es eben durch die Erwärmung nährend geworden sei und zwar durch Abspaltung von Pepton. Ueber die chemische Möglichkeit eines solchen Vorganges will ich mich hier in keine Controverse einlassen — sehr plausibel erscheint die Annahme nicht. Hinsichtlich des activen Serums aber ist die Osmosetheorie geradezu gezwungen, einen Hungerzustand für darin suspendirte Bakterien anzunehmen, wenn anders der Salzdruck überhaupt zur baktericiden Wirksamkeit gelangen soll. Gebe ich aber das als richtig zu, so ist es schwer erklärlich, wie die Bakterien sich dann in dem noch mit Salz versetzten Serum so gut halten können. Die einzige Möglichkeit für eine Erklärung läge dann darin, dass die zugesetzten Salze im Serum vielleicht nicht ihren vollen osmotischen Druck entfalteten, vielleicht durch Bildung von Additionen mit den Eiweisskörpern oder durch lockere Verbindungen anderer Art. Wäre das der Fall, so müsste es sich durch vergleichende Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigungen feststellen lassen. Ich habe also die Gefrierpunktserniedrigung einer 0.92 procentigen Kochsalzlösung und die frischen Rinderserums festgestellt, sodann zu beiden je 1 Procent Kochsalz zugefügt und wieder die Gefrierpunktserniedrigung bestimmt. Wären jetzt Bindungen zwischen dem Kochsalz und irgend welchen im Serum befindlichen Stoffen erfolgt, so müsste die Gefrierpunktserniedrigung des Salzserums eine geringere sein als die der 1·92 procentigen Kochsalzlösung. Wie sich zeigt, war das nicht Fall.

0·92 Procent NaCl	△ = 0·558.
1·92 Procent NaCl	△ = 1·154.
Rinderserum	△ = 0·558.
Rinderserum + 1 Procent NaCl .	△ = 1·156.

Ich habe aber noch mit der weiteren Möglichkeit gerechnet, dass es sich hier vielleicht um so lockere Verbindungen handelte, dass sie, an eine gewisse Temperatur geknüpft, beim Gefrieren sich lösten. Für den Fall war zu erwarten, dass die Untersuchung mit dem Köppe'schen Hämatokriten Anhaltspunkte lieferte. Bei dieser Methode wird bekanntlich aus dem Volum der rothen Blutzellen im Verhältniss zum Gesammtblutvolum auf den osmotischen Druck der mit dem Blut gemischten Lösung geschlossen. Isosmotische Lösungen geben ein gleiches Procentverhältniss. Ich bin dann so verfahren, dass ich Kaninchenserum mit verschiedenen Salzmengen versetzt und dies Salzserum dann neben einander mit entsprechenden Salzlösungen gegenüber Kaninchenblutkörperchen ver-



glichen habe. In einer grossen Reihe Versuchen ergaben sich keine Unterschiede, die auf ein wesentlich anderes Verhalten der Salze im Serum als in wässerigen Lösungen schliessen liessen.

Diese Resultate stehen in Uebereinstimmung mit denen anderer Autoren. Bugarszky und Liebermann (22) zeigten, dass Zusatz von Albumin zu Kochsalzlösungen keine Herabsetzung der Gefrierpunktserniedrigung zur Folge hatte. Köppe sah nach reichlicher Zufuhr von Salzen den osmotischen Druck des Blutplasmas steigen.

Unter diesen Umständen bleiben aber die Thatsachen, von denen wir ausgingen, nur dann zu erklären, wenn wir die Vorstellung von der Hungerwirkung im Serum doch erheblich einschränken. Dieselbe kann thatsächlich nur eine ganz kurze Zeit währen. Für die Zeitdauer gewinnen wir gewisse Anhaltspunkte, wenn wir feststellen, wie lange ein gewisser Salzdruck im salzhaltigen Serum und wie lange in nährstofffreier Salzlösung von den Bakterien ausgehalten wird. Es ergiebt sich dann, dass eine gewisse Ernährung sehr früh, schon nach einigen Minuten, einsetzen muss. Dieselbe reicht für den sonst nicht geschädigten Protoblasten aus, um auch einen hohen osmotischen Druck zu compensiren. Bei dem durch Giftwirkung geschwächten Protoblasten kommt es dagegen gar nicht zur Bildung proteolytischer Enzyme; er vermag sich nur dann eventuell zu halten, wenn ihm die Nährstoffe in einer für die Assimilation besonders geeigneten Form dargeboten werden.

Ich glaube hiermit im Wesentlichen die Punkte erörtert zu haben, die für die Bedeutung der Salzwirkung im Serum in Frage kommen. Es hat sich dabei durch die verschiedensten Versuche die Unmöglichkeit ergeben, die baktericide Wirkung des Serums auf osmotischer Basis auch nur quantitativ erklären zu können. Der osmotische Druck im Serum ist ein viel zu geringer, als dass er auch bei Annahme von zunächst schwierigen Assimilationsverhältnissen eine erhebliche Keimabnahme bedingen könnte. Es zeigte sich weiter, dass sogar ein viel höherer osmotischer Druck hierzu nicht im Stande war, ja dass sogar mit der Steigerung desselben eine erhebliche Abnahme der baktericiden Kraft Hand in Hand ging. Auch die sonstigen besonderen physikalischen Verhältnisse des Serums, auf die früher von französischer Seite viel Werth gelegt wurde, können nicht die Ursache sein, da wir sehen, dass sowohl das eingeengte wie neutralisirte Serum an Wirksamkeit gegenüber Milzbrandbacillen verlor. Auch in qualitativer Beziehung zeigte sich die Serumwirkung bei dem entscheidenden Versuche mit der Auflösung von Cholerabacillen im Ratten-



serum als durchaus verschieden von den durch rein osmotische Kräfte bedingten Veränderungen. Diesen Befunden gegenüber sprach alles dafür, dass die baktericide Kraft auf besonderen chemischen Substanzen beruhte, die nach ihrem ganzen Verhalten den uns sonst bekannten Fermenten nahe stehn mussten.

Ein Einwand hat allerdings noch der Aufklärung einige Schwierigkeiten gemacht, und dieser bestand in der Thatsache, die früher schon von Behring mitgetheilt, von Baumgarten und Walz bestätigt und immer wieder gegen die Alexine ins Feld geführt wurde, dass Milzbrandbacillen, an Seidenfäden angetrocknet, im wirksamen Serum anscheinend ganz ohne Behinderung zum Auswachsen kommen. Es ist dem gegenüber auf ein analoges Verhalten der Bacillen in Wattebäuschchen aufmerksam gemacht, Buchner hat weiter die Hypothese aufgestellt, dass das Serum an das trockene Material gewissermassen nicht heran könne. Man wird auch geltend machen können, dass die aussen am Seidenfaden liegenden Bacillen an der Seide eine gewisse Rückendeckung haben, dass die in den Poren liegenden, als in capillaren Räumen befindlich, weniger von der Alexinwirkung betroffen werden müssten. Alles dieses kann aber noch nicht die Thatsache erklären, dass solche Bacillen in Anwesenheit eines baktericiden Stoffes sogar auswachsen. Eingehendere Versuche hierüber haben mich nun auch zu einer anderen ausreichenden Erklärung geführt, deren Einzelheiten ich mir für die folgende Arbeit vorbehalte.

Ueber die Hypothese Fischer's, dass auch die Wirkung des Immunserums auf eine Steigerung des Salzdruckes im Serum zurückzuführen sei, darf ich wohl hinweggehen. Eine solche Annahme steht mit den elementaren Thatsachen der Immunität in einem zu krassen Widerspruche. Wenn Fischer schliesslich verlangt, dass man erst die baktericide Wirkung einmal am dialysirten Serum demonstriren müsse, so könnte mit demselben Rechte Jemand sich darauf kapriciren, die Pepsinwirkung in alkalischer Lösung vorgeführt zu sehen.

Die Existenz baktericider fermentartig wirkender Körper im extravasculären Blute oder Serum kann heute nicht mehr geleugnet werden. Die Beziehungen derselben zur angeborenen natürlichen Immunität sind dagegen noch völlig dunkel, schon deshalb, weil wir gar nicht wissen, ob diese Stoffe im wirksamen Zustande in den kreisenden lebenden Säften enthalten sind. Die Thatsache, dass sie in Verbindung mit gewissen specifischen Immunkörpern im immunisirten Organismus in Action treten können, sagt uns noch nichts über ihr Verhalten ohne jene Substanzen. Die natürliche Widerstandsfähigkeit setzt sich wohl zweifellos aus einer

ganzen Reihe von Componenten zusammen, die von Fall zu Fall andere sein können. Hier werden auch gewisse osmotisch-nutritive Störungen, die bei Uebertragung eines Keimes auf ein neues Substrat zunächst einsetzen müssen, zu ihrem Rechte kommen und zwar dadurch, dass sie die physiologische Leistungsähigkeit des Bakteriums in Bezug auf seine Giftbildung herabsetzen. In dem Sinne sind diese Störungen von Maxutow und auch von mir in Bezug auf die Staphylokokkeninfection gewürdigt. Mit der „baktericiden" Wirkung des Serums aber haben sie nichts zu thun.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Pfeffer, *Pflanzenphysiologie.* 1897.
2. Derselbe, *Osmotische Untersuchungen.* 1874.
3. Derselbe, *Plasmahaut und Vacuolen.* 1890.
4. Ostwald, *Lehrbuch der allgemeinen Chemie.*
5. Lehmann, *Molecularphysik.* 1888.
6. Traube, *Archiv für Anatomie und Physiologie.* 1867. S. 87.
7. Hamburger, *Archiv für Physiologie.* 1887. S. 31.
8. Hofmeister, Zur Lehre von der Wirkung der Salze. *Archiv für experim. Pathologie und Pharmakologie.* Bd. XXIV u. XXV.
9. Lewith, Zur Lehre von der Wirkung der Salze. *Ebenda.* Bd. XXIV.
10. A. Schmidt, Ueber die Beziehungen des Kochsalzes zu einigen thierischen Fermentationsprocessen. Pflüger's *Archiv.* Bd. XIII.
11. Nasse, Untersuchungen über die ungeformten Fermente. *Ebenda.* Bd. XI.
12. Derselbe, *Ueber ungeformte Fermente.* 1894.
13. v. Moraczewski, Ueber die Enzyme. Pflüger's *Archiv.* Bd. LXIX.
14. Heidenhain, Beiträge zur Kenntniss des Pankreas. *Ebenda.* Bd. X.
15. Biernacki, Das Verhalten der Verdauungsenzyme bei Temperaturerhöhungen. *Zeitschrift für Biologie.* Bd. XXVIII u. XXIX.
16. A. Fischer, Die Plasmolyse der Bakterien. *Berichte der königl. sächs. Gesellschaft der Wissenschaften.* 2. März 1891.
17. Derselbe, Die Empfänglichkeit der Bakterienzelle u. das baktericide Serum. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXV.
18. Spiro, Ueber physikalische und physiologische Selection. Strassburg 1897. *Habilitationsschrift.*
19. Bugarsky und Tangl, *Centralblatt für Physiologie.* 1897.
20. Dieselben, *Archiv für die gesammte Physiologie.* 1898.
21. Höber, Theorie der Lösungen. *Centralblatt für Physiologie.* Bd XIX.
22. Bugarsky u. Liebermann. Ueber das Bindungsvermögen eiweissartiger Körper für Salzsäure, Natriumhydrat und Kochsalz. Pflüger's *Archiv.* 1898.
23. Köppe, *Physikalische Chemie in der Medicin.* Wien 1900.
24. Oppenheimer, *Die Fermente.* 1900.
25. Ficker, Ueber Wachsthumsgeschwindigkeit des Bacterium coli. *Dissertation.* Leipzig 1893.



26. Behring, Die Ursache der Immunität von Ratten gegen Milzbrand. *Centralblatt für klin. Medicin.* 1888. Nr. 38.

27. v. Fodor, Die Fähigkeit des Blutes, Bakterien zu vernichten. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1887. Nr. 34.

28. Derselbe, Neuere Untersuchungen über die bakterientödtende Kraft des Blutes und über die Serumimmunisation. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. VII. Nr. 24.

29. Petruschky, Die Einwirkungen des lebenden Froschkörpers auf den Milzbrandbacillus. *Diese Zeitschrift.* Bd. VII.

30. Nutall, Experimente über die bakterienfeindlichen Einflüsse des thierischen Körpers. *Ebenda.* Bd. IV.

31. Nissen, Zur Kenntniss der bakterienvernichtenden Eigenschaften des Blutes. *Ebenda.* Bd. VI.

32. Behring und Nissen, Ueber bakterienfeindliche Eigenschaften verschiedener Blutserumarten. *Ebenda.* Bd. VIII.

33. Ficker, Ueber Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. *Habilitationsschrift.* Leipzig 1898.

34. Buchner, Ueber die bakterientödtende Wirkung des zellfreien Blutserums. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. V u. VI.

35. Derselbe, Ueber die nähere Natur der bakterientödtenden Substanz im Blutserum. *Ebenda* Bd. VI.

36. Derselbe, Die keimtödtende, die globulicide und die antitoxische Wirkung des Blutserums. *Münchener med. Wochenschrift.* 1892. Nr. 8.

37. Derselbe, Weitere Untersuchungen über die bakterienfeindlichen und globuliciden Wirkungen des Blutserums. *Archiv für Hygiene.* Bd. XVII.

38. Derselbe, Ueber den Einfluss der Neutralsalze auf Serumalexine, Enzyme, Toxalbumine, Blutkörperchen und Milzbrandsporen. *Ebenda.* S 138.

39. Behring, Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. *Diese Zeitschrift* Bd. VI.

40. Derselbe, *Bekämpfung der Infectionskrankheiten.* 1894.

41. Buchner, Voit, Sittmann, Orthenberger, Untersuchungen über die bakterienfeindlichen Wirkungen des Blutes und Blutserums. *Ebenda.* 1890.

42. Buchner, Natürliche Schutzeinrichtungen des Organismus und deren Beeinflussung zum Zweck der Abwehr von Infectionsprocessen. *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 39 u. 40.

43. Jetter, Untersuchungen über die „bactericide" Eigenschaft des Blutserums. *Arbeiten aus dem pathol.-anatom. Institut zu Tübingen.* Bd. I.

44. Walz, *Ueber die sogenannte bakterieide Eigenschaft des Blutserums.*

45. Baumgarten, Beiträge zur Lehre von der natürlichen Immunität. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 41.

46. Derselbe, Zur Lehre von den natürlichen Schutzmitteln des Organismus gegenüber Infectionen. *Ebenda.* 1900. Nr. 7.

47. Derselbe, *Lehrbuch der Mykologie.* Braunschweig 1890.

48. Stern, Ueber die Wirkung des menschlichen Blutes und anderer Körperflüssigkeiten auf pathogene Mikroorganismen. *Zeitschr. f. klin. Medicin.* Bd. XVIII.

49. Derselbe, *Ueber einige neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der Immunitätslehre.*

50. Metschnikoff, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1889. Nr. 12.

51. Kionka, Versuche über die bakterientödtende Wirkung des Blutes. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XII.



52. v. Szekely und Zana, Experimentelle Untersuchungen über die Veränderungen der sogen. mikrobiciden Kraft des Blutes. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XII.

53. Kruse und Pansini, Untersuchungen über den Diplococcus pneumoniae und verwandte Streptokokken. *Diese Zeitschrift.* Bd. XI.

54. Moxter, Die Beziehungen der Leukocyten zu den bakterienauflösenden thierischen Säften. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 42.

55. Schattenfroh, Ueber das Vorhandensein von baktericiden Stoffen in den Leukocyten und deren Extraktion. *Münchener med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 1.

56. Derselbe, Weitere Mittheilungen über die baktericiden Leukocytenstoffe. *Ebenda.* 1897. Nr. 16.

56a. Bail, Ueber die Inactivirbarkeit leukocytenreicher Exsudate. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1898. Nr. 22.

57. Hahn, Ueber die Steigerung der natürlichen Widerstandsfähigkeit durch Erzeugung von Hyperleukocytose. *Archiv für Hygiene.* Bd. XXVIII.

58. Finkh, Aufhebung der sogenannten baktericiden Wirkung des Blutserums durch Zusatz von Nährstoffen. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVIII.

59. Matzuschita, Die Einwirkung des Kochsalzgehaltes des Nährbodens auf die Wuchsform der Mikroorganismen. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXV.

60. Lubarsch, Ueber die bakterienvernichtenden Eigenschaften des Blutes und ihre Beziehungen zur Immunität. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1889. Nr. 18/19.

61. Hahn, Ueber die Beziehungen der Leukocyten zur baktericiden Wirkung des Blutes. *Habilitationsschrift.* München 1895.

62. Denys et Kaisin, Recherches à propos des objections récemment élevées contre le pouvoir bactéricide. *Le Cellule.* T. IX.

63. Denys et Havet, Sur la part des leucocytes dans le pouvoir bactéricide du sang de chien. *Ebenda.* T. X.

64. Bastin, Contribution à l'étude du pouvoir bactéricide du sang. *Ebenda.* T. VIII.

65. Sawtschenko, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897. p. 864.

66. Pfeiffer, Weitere Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität und über specifisch baktericide Processe. *Diese Zeitschrift.* Bd. VIII.

67. Derselbe, Weitere Mittheilungen über die specifischen Antikörper der Cholera. *Ebenda.* Bd. XX.

68. Derselbe, Die Differentialdiagnose der Vibrionen der Cholera asiatica mit Hülfe der Immunisirung. *Ebenda.* Bd. XIX.

69. Székely, Untersuchungen über die sogenannte baktericide Kraft des Blutes. Referat: Baumgarten's *Jahresbericht.* XII. S. 742.

70. Gottschlich u. Weigang, Ueber die Beziehungen zwischen Virulenz und Individuenzahl einer Choleracultur. *Diese Zeitschrift.* Bd. XX.

71. Löwit, Ueber die Beziehungen der Leukocyten zur baktericiden Wirkung und zur alkalischen Reaction des Blutes. Ziegler's *Beiträge.* Bd. XXII.

72. Derselbe, *Ebenda.* Bd. XXII. — *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. XXIII.

73. Emmerich u. Tsuboi, Ueber die Erhöhung und Regeneration der mikrobiciden Wirkung des Blutserums. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIII. S. 575.

73a. Pansini, Weitere Untersuchungen über das Verhalten des Serums gegenüber den Mikroorganismen. Ziegler's *Beiträge.* Bd. XII. S. 372.

74. Bonaduce, Ueber Beziehungen des Blutserums von Thieren zur natürlichen Immunität. Ziegler's *Beiträge.* Bd. XXII. S. 353.



75. Rosatzin, Untersuchungen über die bakterientödtenden Eigenschaften des Blutserums und ihre Bedeutung für die verschiedene Widerstandsfähigkeit des Organismus. In Lubarsch, *Zur Lehre von den Geschwülsten u. Infectionskrankheiten.* 1899.

76. Maxutow, Uebersetzung aus dem Russischen: *Deutsche Medicinalzeitung.* 1898. S. 1003.

77. Emmerich, Tsuboi, Steinmetz und Löw, Ist die bakterientödtende Eigenschaft des Blutserums eine Lebensäusserung oder ein rein chemischer Vorgang? *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XII.

78. Roser, *Beiträge zur Biologie niederer Organismen.* Marburg 1881.

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]

Experimentelle Beiträge zur Kenntniss der natürlichen und künstlichen Immunität.[1]

Von

Prof. Dr. **A. Wassermann,**
Privatdocent an der Universität.

I. Allgemeiner Theil.

In einer früheren Arbeit[2] hatte ich auf den scharfen Unterschied aufmerksam gemacht, der zwischen der Seitens des künstlich immunisirten Organismus erfolgenden Production von antitoxischen Stoffen nach v. Behring und derjenigen von specifisch baktericiden Körpern nach R. Pfeiffer besteht. — Diese exacte Trennung ist für das Verständniss der neueren Fortschritte auf dem Gebiete der Immunitätslehre unerlässlich, und ich betone sie deshalb noch einmal, weil ihre Kenntniss offenbar noch immer nicht Allgemeingut der Autoren geworden ist. Denn sehr häufig begegnet man noch heute z. B. dem Ausdruck „Typhus-Antitoxin" für ein Serum, das einem mit lebenden oder todten Typhusbacillen vorbehandelten Thiere entstammt, und welches also keine Spur von Antitoxin, sondern baktericide Substanzen enthält. Es ist dies indessen, um einen groben Vergleich zu gebrauchen, ebenso unrichtig, wie wenn wir es als das Gleiche betrachten wollten, zum Schutze gegen eine giftige Schlange ihr die Giftdrüse zu nehmen, das Thier aber am Leben zu lassen, oder anderenfalls die Schlange einfach zu tödten. Diese beiden Vorgänge sind sicherlich, wie Jeder zugeben wird, ganz verschieden, und ebenso verschieden

[1] Eingegangen am 1. April 1901.

[2] A. Wassermann, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXII.



ist die Wirkung eines antitoxischen und eines baktericiden Serums. — Die Antitoxine binden das betreffende Toxin, lassen aber die Bakterien selbst unbeeinflusst, die baktericiden Körper dagegen tödten die lebenden Bakterien und bringen sie zur Auflösung, lassen indessen deren Gifte unbeeinflusst.

Ueber den feineren Mechanismus der **Antitoxinwirkung** sind wir seit längerer Zeit im Klaren. — Wir wissen, dass es sich bei der Einwirkung zwischen Antitoxin und Toxin um einen rein quantitativ verlaufenden Bindungsvorgang handelt. Jedes Antitoxin hat eine maximale specifische Affinität zu seinem Gifte, reisst vermöge dieser das Gift auch aus den stärksten Verdünnungen an sich und verhindert es durch diese Bindung, an die betreffende Körperzelle zu gehen, für welche es giftig ist. Es zerstört also das Antitoxin nicht das Gift, sondern es bindet dasselbe, und in der That kann man dies leicht nachweisen. (Calmette, A. Wassermann, Ehrlich, Kossel.)

Wir sehen demnach, dass bei der gegenseitigen Einwirkung zwischen Gift und Antitoxin kein Bestandtheil des lebenden **normalen** Organismus in Mitwirkung tritt, ein Verhalten, das, wie wir später sehen werden, bei der Wirkung von baktericiden Sera auf lebende Bakterien ganz anders ist.

Ehrlich unterscheidet nun am Gifte jene Gruppe, welche die maximale Bindungsaffinität zum Antitoxin hat, als haptophore Gruppe von jener, welche die Trägerin der Giftwirkung ist, der toxophoren Gruppe. — Diese Unterscheidung ist experimentell wohl begründet, denn es können durch alle möglichen Eingriffe (Wärme u. s. f.), oder auch spontan durch Zersetzungen Bakterientoxine ihre Giftigkeit mehr oder weniger stark verlieren und behalten dabei trotzdem ihre volle Bindungsfähigkeit für Antitoxin (Toxoide). Es wird also in einem solchen Falle die labilere toxophore Gruppe zerstört, während die stabilere haptophore erhalten bleibt. — Das Umgekehrte, d. h. Erhaltung der toxophoren und Zerstörung der haptophoren Gruppe, ist bis jetzt noch nicht beobachtet worden. Wir müssen uns also die haptophore Gruppe eines Toxins als inactivirtes Gift vorstellen, dem zur Reactivirung seine toxophore Gruppe wieder angefügt werden müsste, eine theoretische Forderung, welche bisher nicht erfüllt werden konnte, da wir, wie gesagt, die toxophore Gruppe eines Giftes bis heute noch nicht isolirt in Händen hatten.

Die haptophore Gruppe des Giftes, welche die specifische Affinität zum Antitoxin besitzt, ist weiterhin nun auch der Factor, welcher die toxophore Gruppe an die lebende Gewebszelle kettet und sie damit ihre Giftwirkung ausüben lässt. Es besitzt also die haptophore Gruppe auch eine specifische Affinität zu gewissen Organzellen, bezw. bestimmten Theilen derselben, den Seitenketten (Receptoren Ehrlich's), und Ehrlich gründete



auf diese Annahme seine Seitenkettentheorie. Diese Theorie besagt, dass die Antitoxine nichts anderes seien als jene in das Blut abgestossenen Theile der Zellen, für welche die haptophore Gruppe des betreffenden Giftes die specifische Affinität hat. — Diese abgestossenen Receptoren binden durch ihre Affinität zur haptophoren Gruppe des Giftes das im Blute kreisende Toxin, sättigen seine Affinität und verhindern so, dass das Gift an die lebenden Zellen des Organismus kommen kann. — Daher die Schutzwirkung der Antitoxine. — Bekannt ist, dass diese Theorie sehr rasch ihre experimentelle Stütze dadurch fand, dass man zwischen Tetanusgift und normalem Centralnervensystem tetanusempfänglicher Thiere specifische Bindung und damit Schutzwirkung gegenüber dem Tetanusgifte nachweisen konnte.

Aus Alledem ersehen wir, dass die Antitoxintherapie als ein reiner Kampf der Affinitäten zwischen haptophorer Gruppe des Giftes einerseits zu den Organzellen (Receptoren) und andererseits zu den im Blut befindlichen Organseitenketten i. e. Antitoxin aufzufassen ist.

In diesem Kampfe sind nun drei Möglichkeiten denkbar. Erstens, das Gift hat grössere Affinität zu der Gewebszelle als zu dem im Blute kreisenden Antitoxin. Dies ist der ungünstigste Fall, und das Antitoxin kann nichts nützen. Zweitens, die Affinitäten des Giftes zu Zelle und Antitoxin sind gleich. In diesem, dem bis jetzt am häufigsten beobachteten Falle wird das noch nicht an die Gewebszelle verankerte Gift von dem Antitoxin gebunden werden, da es letzteres zuerst in der Blutbahn trifft und daher hier sofort seine Affinität sättigt. Drittens, die Affinität der haptophoren Gruppe des Giftes zum Antitoxin ist grösser als diejenige zum Receptor der lebenden menschlichen Zelle. — Dies ist der günstigste Fall, denn in diesem Falle müsste auch das bereits an die Zelle verankerte Gift vom Antitoxin wieder entrissen werden und daher die Heilwirkung am grössten sein. Thatsächlich haben wir diesen Fall nur in beschränkter Weise und bei Anwendung sehr grosser Mengen von Antitoxin bisher einwandsfrei nachgewiesen gesehen (Dönitz).[1] Indessen ist es sehr wohl möglich, gerade auf diesem Gebiete noch wichtige Fortschritte zu erzielen. Es kommt in dieser Beziehung vor Allem die Wahl des Thieres in Betracht, von welchem wir das Antitoxin gewinnen. Finden wir ein Thier, zu dessen Receptoren ein Gift eine grössere Affinität hat als zu denjenigen des Menschen, dann muss auch das von diesem Thiere gewonnene Antitoxin nach der Seitenkettentheorie eine grössere Affinität

[1] Dönitz, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 27. — *Arch. internat. de Pharmacodyn.* 1899. — Vgl. auch die Arbeit von Heymans: „Ueber die Bindung von Giften". *Bull. de l'acad. roy. de Méd. de Belgique.* 1898.

zum Gifte haben als die betreffenden menschlichen Zellen. Ehrlich hat bereits diesem Gedanken Ausdruck gegeben, und den ersten Versuch, ihn praktisch durchzuführen, finde ich in der jüngsten Arbeit von v. Behring und Kitashima[1], indem diese Autoren angeben, dass sie in der Erwartung, ein qualitativ noch besseres Diphtherieantitoxin als bisher zu erzielen, Affen gegen Diphtherie immunisirten. —

Wenden wir uns nach diesem kurzen Referate über den Stand unseres gegenwärtigen Wissens betreffs der Antitoxine zu den specifisch baktericiden Immunsera, so datirt hier die Klärung unserer Kenntnisse erst seit kürzerer Zeit. Die specifisch baktericiden Sera haben bekanntlich die Fähigkeit, lebende Bakterien abzutödten und aufzulösen, ohne indessen deren Gifte nennenswerth zu beeinflussen.

Die Eigenschaft des normalen, frischen, extravasculären Serums, eine gewisse Menge Bakterien abzutödten und aufzulösen, also baktericid zu wirken, ist eine seit langer Zeit bereits bekannte Thatsache (v. Fodor, Nutall, Buchner, Nissen u. s. f.). Diese im normalen Serum vorhandenen baktericiden Stoffe wurden von Buchner als Alexine bezeichnet und mit der natürlichen Immunität in einen directen ursächlichen Zusammenhang gebracht.

In einen scharfen Gegensatz zu diesen baktericiden Eigenschaften des normalen Serums wurden von R. Pfeiffer und mir selbst[2] die specifisch baktericiden Substanzen des Immunserums gestellt, d. h. jene Substanzen, welche im Serum eines Thieres auftreten, das mit Typhus, Cholera, Pyocyaneuscultur u. s. w. immunisirt worden war. Die Hauptunterschiede, auf welche sich dieser Gegensatz gründete, waren folgende. Das Serum eines gegen Cholera immunisirten Thieres hatte ausserhalb des Organismus, also im Reagensglase, keine stärkere vibrionenauflösende Kraft als normales Serum. Einem Tier in minimalsten Quantitäten einverleibt, vermochte es dagegen ungeheuer grosse Mengen lebender Choleravibrionen unter Granulabildung aufzulösen und dadurch das Thier vor der Infection zu schützen. Diese baktericide enorme Wirkung hatte in kleinen Quantitäten, unter 0·1 ccm Serum, nur ein Immunserum gegenüber der Bakterienart, mit welcher das serumspendende Thier immunisirt worden war, gegenüber anderen war sein Wirkungstitre nicht höher als derjenige normalen Serums. Es war also, richtig dosirt, specifisch wirksam, während das normale Serum seine baktericide Kraft in allen Quantitäten, in welchen es überhaupt wirksam war, gegenüber allen möglichen Bakterienarten entfaltete. Zur Erklärung des am meisten auffallenden Factums, dass

[1] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1901.

[2] R. Pfeiffer und A. Wassermann, *Diese Zeitschrift.* Bd. XIV.



das specifisch baktericide Immunserum in vitro keine stärker bakterienauflösende Fähigkeit als normales Serum, diese aber so ungemein gesteigert im Thierkörper zeigte, nahm R. Pfeiffer[1] an, dass die wirksamen Körper des baktericiden Immunserums dortselbst in einer inactiven Modification vorhanden seien und erst im Thierkörper durch ein Agens activirt werden.

Die Anschauung indessen, dass eine charakteristische Eigenschaft der specifisch baktericiden Immunsera in ihrer bis dahin ausschliesslich im Thierkörper beobachteten bakterienauflösenden Wirkung beruhe, musste sehr bald in Hinblick auf Experimente von Metschnikoff[2] und Bordet[3] aufgegeben werden. Metschnikoff zeigte nämlich, dass nach Zusatz einer ganz geringen Menge normalen Peritonealexsudates zu specifisch baktericidem Immunserum nunmehr die Bakterienauflösung sich auch im hohlen Objectträger genau so wie im lebenden Organismus vollzieht, und weiterhin Bordet, dass in ganz frischem, erst kurze Zeit dem Thiere entzogenen Immunserum das Pfeiffer'sche Phänomen, wie der ganze Vorgang genannt wurde, sogar ohne Zusatz normalen Serums in vitro eintritt. Diese Metschnikoff-Bordet'schen Versuche wurden Jahre lang nicht weiter beachtet, trotzdem sie, wie wir im ferneren Verlaufe sehen werden, als grundlegend für die gesammte Erkenntniss der baktericiden Immunität aufzufassen sind. — Die neue Phase in der Erforschung der Wirkungsweise der baktericiden Immunsera, die nun folgte, gründet sich nun nicht so sehr auf Experimente mit baktericiden, als vielmehr mit hämolytischen Seris. Bereits Buchner[4] hatte auf die Analogie zwischen baktericider und globulicider, d. h. blutkörperchenlösender Kraft des normalen Serums hingewiesen. Besonderes Interesse für die Immunitätslehre gewann indessen diese globulicide oder hämolytische Fähigkeit des Serums erst, als Bordet[5] im Anschluss an die Arbeit von Belfanti und Carbone zeigte, dass dieselbe genau wie die baktericide Kraft des normalen Serums gegenüber einer bestimmten Art durch Vorbehandlung eines Thieres mit dieser Art ungemein gesteigert werden kann. Behandelt man also beispielsweise ein Kaninchen durch Injectionen mit Meerschweinchenblut vor, so erzielt man bei dem Kaninchen ein Serum, das einen gegenüber dem Werth des normalen Serums ungemein erhöhten Lösungswerth für Meerschweinchenblutkörperchen im Reagensglase besitzt, aber auch nur für diese Blutkörperchenart, für alle übrigen ist der Lösungswerth nicht grösser als der des normalen Kaninchenserums. Es entsteht

[1] R. Pfeiffer, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896.
[2] Metschnikoff, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895.
[3] Bordet, *Ebenda.*
[4] Buchner, *Münchener med. Wochenschrift.* 1892.
[5] Bordet, *Annales de l'Institut Pasteur.* T. XII.



also, wie diese Versuche Bordet's ergaben, durch Vorbehandlung eines Thieres mit dem Blute einer anderen Spezies ein specifisch hämolytisches Serum für die Erythrocyten der Art, von welcher die injicirten Blutkörperchen stammen. Bordet[1] konnte nun weiter zeigen, dass die Wirkung des hämolytischen Serums auf dem combinirten Ineinandergreifen zweier im Serum enthaltenen Substanzen beruhe, einer Substanz, welche die Erhitzung auf 55° aushält, und einer anderen sehr labilen, welche bei dieser Temperatur zerstört wird und schon im normalen Serum vorhanden ist. Denn Zusatz einer geringen Menge normalen Serums zu dem auf 55° erhitzten, also inactivirten Serum, stellte dessen hämolytische Kraft wieder her. Die erstere nannte Bordet substance sensibilatrice und vindicirte ihr die Rolle, das Blutkörperchen für die Einwirkung der letzteren, welche eine Art verdauenden Fermentes ist und von Bordet als identisch mit dem ebenfalls bei 55° zu Grunde gehenden Buchner'schen Alexin des normalen Serums bezeichnet wurde, empfänglich zu machen.

Die weiteren Fortschritte in dieser Lehre von den Hämolysinen, welche wir wegen ihrer Analogie mit den baktericiden Immunseris und zum Verständniss der gesammten folgenden Arbeit für den diesen Forschungen ferner stehenden Leser etwas genauer referiren müssen, knüpfen sich nun an die Namen von Ehrlich und Morgenroth.[2] Diese Autoren konnten zeigen, dass der Träger der Specificität eines Hämolysins diejenige Substanz im Serum ist, welche die Erhitzung auf 55° aushält, und welche sie als Immunkörper bezeichneten. Der Immunkörper hat eine maximale Affinität nur zu denjenigen Erythrocyten, für welche das betreffende Serum hämolytisch ist. Die Bindung des Immunkörpers an sein rothes Blutkörperchen ist eine chemische und sehr feste. Versetzten die Autoren beispielsweise ein Hammelblut lösendes inactivirtes Hämolysin mit Hammelblutkörperchen und centrifugirten ab, so wurde aus dem Serum der gesammte Immunkörper für Hammelblut von den rothen Blutkörperchen an sich gerissen. Machten sie den gleichen Versuch mit einer anderen Blutkörperchenart, so blieb der Immunkörper in der Flüssigkeit. Daraus geht also hervor, dass der Träger der Specificität des hämolytischen Serums der Immunkörper ist. Ehrlich und Morgenroth konnten nun weiter zeigen, dass der Immunkörper nicht nur eine specifische Affinität zu dem aufzulösenden Blutkörperchen, sondern auch zu den im normalen Serum stets vorhandenen auflösenden Fermenten, dem Alexin Buchner's und Bordet's, besitzt. Dieses verdauende Ferment des normalen Serums, das bei 55°

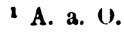
[1] Bordet, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1899 u. 1900.

[2] Ehrlich und Morgenroth, Zur Theorie der Lysinwirkung, sowie vier Aufsätze über „Hämolysine". *Berliner klin. Wochenschrift*. 1899, 1900 u. 1901.



zerstört wird, nannten diese Autoren Complement. Die Rolle des Immunkörpers besteht also darin, durch diese beiden einerseits am Blutkörperchen, andererseits am Complemente angreifenden haptophoren Gruppen (Bindungsgruppen) das Complement, welches selbst keine Bindungsaffinität zu den Erythrocyten hat, an diesen zu ketten und so die auflösende, zymotoxische Gruppe des Complementes auf das Blutkörperchen wirken zu lassen. Ehrlich und Morgenroth[1] zeigten dann ferner, dass auch bei den im normalen Serum schon vorkommenden Hämolysinen der Mechanismus genau derselbe ist, wie bei diesen durch künstliche Vorbehandlung von Thieren mittels Blutes gewonnenen sogenannten specifisch hämolytischen Serumarten. So löst beispielsweise das normale Ziegenserum von Haus aus gleichzeitig Meerschweinchen- und Kaninchenblut. Es ist nun darin nicht etwa ein einziger Körper, welcher zu diesen beiden Blutkörperchenarten gleichzeitig Affinität hat, sondern es befinden sich in demselben neben einander, wie Ehrlich und Morgenroth durch die elective Entziehung mittels zugesetzter Meerschweinchen- oder Kaninchenblutkörperchen zeigen konnten, zwei Immunkörper, von denen der eine specifisch für die erstere, der andere für die letztere Erythrocytenart ist.

Diese Versuche der genannten Autoren mit den normalen, also nicht vorbehandelten Thieren entstammenden hämolytischen Serumarten sind nun in principieller Beziehung sehr wichtig. Wie wir oben gesehen haben, sah man einen Hauptunterschied der sogenannten specifisch baktericiden Immunsera gegenüber den baktericiden normalen Sera darin, dass erstere in minimalen Quantitäten nur eine einzige Bakterienart specifisch beeinflussen, während letztere gleichzeitig mehrere Arten, z. B. Typhus, Cholera u. A. m., abtödteten. Man sah also das Buchner'sche Alexin des normalen Serums als eine einheitliche, sagen wir verdauende Substanz an, welche gleichzeitig alle möglichen Arten Bakterien und Blutkörperchen aufzulösen vermag, während in dem specifisch baktericiden Serum künstlich immunisirter Thiere nur eine specifisch auf die betreffende Bakterienart abgestimmte Substanz sein sollte. Die Umstimmung unserer Kenntnisse in dieser Hinsicht durch die obigen Versuche sind nun ganz klar. Auch das im normalen Serum vorhandene Complement besitzt für jede Zelle, welche es zur Auflösung bringt, einen specifischen Immunkörper, ohne diesen vermag das Complement überhaupt nicht zu wirken, und darin besteht also ein Grundunterschied in dem, was Buchner Alexin und Ehrlich Complement nennt. Die scheinbare Nichtspecificität der normalen baktericiden oder globuliciden Sera wird nur dadurch hervorgerufen, dass gleichzeitig mehrere Immunkörper vorhanden sind. Im baktericiden



[1] A. a. O.



bezw. hämolytischen Immunserum dagegen ist in Folge des Immunisirungsprocesses ein einzelner Immunkörper, nämlich der, welcher zu der zur Vorbehandlung verwendeten Zellenart die specifische Affinität besitzt, einseitig stark vermehrt, und daher wirkt dieses in Verdünnungen specifisch nur auf die eine Art.

Somit ergeben sich aus diesen Experimenten folgende Grundthatsachen für die hämolytischen Sera:

1. Die Wirkung beruht auf dem Zusammenwirken von Immunkörper und Complement.

2. Im Immunserum ist nur ein specifischer Zwischenkörper vermehrt, dies ist der einzige Unterschied gegenüber dem normalen Serum.

3. In älteren Immunseris ist nur Zwischenkörper vorhanden, da das sehr labile Complement rasch seine Wirkung verliert.

Diese Thatsachen wurden theils per analogiam von den hämolytischen Seris auf die baktericiden übertragen, theils wurden sie auch durch Versuche mit baktericiden Seris als auch für diese geltend von Bordet bewiesen.

Indessen sind fast alle diese Befunde, soweit sie überhaupt mit baktericiden Seris und Bakterien angestellt wurden, ausserhalb des lebenden Organismus, in vitro vorgenommen worden, so dass stets vielfach der Einwand dagegen erhoben wurde, sie seien für die Vorgänge bei der Immunität in vivo nicht beweisend. — So beziehen Forscher wie Baumgarten[1] und Walz[2] sowie A. Fischer[3] die Auflösung der lebenden Bakterien im extravasculären Serum nicht auf die biologische Thätigkeit eines in dem Serum vorhandenen Fermentes, also des Alexins oder Complementes, sondern führen dieselbe auf physikalische in Veränderung der osmotischen Verhältnisse gelegene Ursachen, auf Plasmolyse zurück. — Diese Forscher und mit ihnen eine grosse Anzahl anderer halten durch die bisherigen Versuche in vitro die Existenz von Complementen in vivo für nicht bewiesen. Wenn dem so wäre, dann würde natürlich die gesammte oben auseinandergesetzte Erklärung für die Wirkung der baktericiden Immunsera im lebenden Organismus in sich zusammenfallen, da ja, wie erinnerlich, nach dieser ohne die Complemente des normalen Serums eine Wirkung der baktericiden Immunsera ausgeschlossen ist.

Ich habe mir daher die Frage vorgelegt, ob es nicht möglich ist, auf experimenteller Grundlage die feineren Vorgänge bei der Wirkung des

[1] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899.

[2] *Ebenda.*

[3] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXV. 1900.



baktericiden normalen und Immunserums, ferner bei derjenigen der antitoxischen Sera sowie andererseits bei der activen Immunität im lebenden inficirten Thiere zu klären. Damit komme ich zu der eigentlichen Aufgabe dieser Arbeit.

II. Experimenteller Theil.

A. Ueber die natürliche Immunität.[1]

Es ist wohl allbekannt, dass zur Erklärung der natürlichen Immunität zwei hauptsächliche Forschungsrichtungen bisher herangezogen wurden, von denen die eine die Thätigkeit der polynucleären Leukocyten, die andere die baktericide Wirkung des extravasculären Serums als ausschlaggebend für die angeborene Resistenz gegenüber gewissen Infectionen zu beweisen suchte. — Diese beiden Anschauungen, welche sich anfangs schroff und einander ausschliessend gegenüberstanden, näherten sich im Verlaufe der Forschung in der Art, als die meisten Experimentatoren zu dem Schlusse kamen, dass die Quelle der im normalen Serum vorhandenen baktericiden Stoffe die Leukocyten seien, durch deren Zerfall also die betreffenden Substanzen, das Alexin Buchner's, in das Serum gelange. — Dieser Ansicht standen und stehen allerdings noch eine nicht geringe Zahl Forscher, an deren erster Stelle, wie schon oben erwähnt, Baumgarten zu nennen ist, gegenüber, welche das vitale Vorhandensein und daher auch die vitale Wirksamkeit des Alexins überhaupt in Abrede stellen. Wir haben also hier ein Gebiet, auf welchem der Forschung noch ein weiter Raum gegeben ist.

Nach den in der Einleitung gegebenen Auseinandersetzungen haben wir uns nach Ehrlich einen bakteriolytischen Complex aus zwei ineinandergreifenden Körpern, einem mit zwei haptophoren Gruppen versehenen Immunkörper und einem dazu einpassenden Complemente, das also eine zu dem Immunkörper passende haptophore und eine verdauende zymotoxische Gruppe besitzt, vorzustellen. Während nun Bordet[2] und Buchner[3] annehmen, dass diese zymotoxische Function an eine einzige im Serum vorhandene Substanz gebunden sei, dass es also nur ein Complement gebe, das zu allen Immunkörpern des Serums passe und deshalb allein alle morphologischen Bestandtheile, Blutkörperchen, alle Arten von

---

[1] Einen kleinen Theil der hier zu besprechenden Experimente habe ich bereits in Nr. 1 der *Deutschen med. Wochenschrift*, 1901, veröffentlicht.

[2] A. a. O.

[3] *Münchener med. Wochenschrift.* 1900.



Bakterien und andere Zellen aufzulösen vermöge, nimmt Ehrlich auf Grund seiner Experimente mit Morgenroth das Vorhandensein einer grossen Reihe verschiedener, wenn auch sehr ähnlicher Complemente im Serum an, welche mit ihrer haptophoren Gruppe nur zur complementophilen Gruppe bestimmter Immunkörper passen und daher auch nur bestimmte Zellen aufzulösen vermögen, eine Ansicht, die jetzt auch Metschnikoff theilt. Ich werde am Schlusse noch Gelegenheit haben, auf die Frage der Vielheit der Complemente einzugehen, welche ich auf Grund meiner Experimente im Sinne Ehrlich's beantworten muss, und will daher für den Augenblick nicht länger dabei verweilen.

Um also über das Vorhandensein bezw. die Wirkung baktericider Kräfte im lebenden normalen Organismus Gewissheit zu erlangen, war der Versuchsplan nach dem soeben Auseinandergesetzten ganz klar gegeben. Es musste eine der beiden Componenten des baktericiden Serums und zwar entweder der Immunkörper oder das zu seiner complementophilen Gruppe passende Complement im Thierkörper ausgeschaltet werden. Dann konnte eine baktericide Wirkung, die ja an das Ineinandergreifen dieser beiden Complexe gebunden ist, nicht mehr eintreten, und es musste sich dieser Ausfall, falls wirklich dieser Mechanismus der baktericiden Function des normalen Serums ein vitaler Vorgang und mit der angeborenen Resistenz ursächlich zusammenhängender ist, in einer Herabsetzung der Resistenz gegenüber gewissen Infectionen zeigen.

In der That ist die Ausschaltung jedes dieser beiden Componenten durch Bindung vermittelst Antikörper möglich. Wie nämlich Bordet[1] und Ehrlich mit Morgenroth[2] gezeigt haben, lässt sich durch Vorbehandlung von Thieren mit hämolytischem Immunkörper ein Anti-Immunkörper und ferner durch Vorbehandlung von Thieren mit frischem, normalem, also complementhaltigem Serum ein Anticomplement erzielen. Der Zusatz entweder des einen oder des anderen zu dem betreffenden Hämolysin hindert dessen Wirkung, indem im ersten Falle der Zwischenkörper, im zweiten das Complement von dem specifischen Antikörper gebunden wird. Ich habe bei meinen Experimenten vorgezogen, mit Anticomplement zu arbeiten, also die Complemente im lebenden Organismus zu binden zu versuchen und die Wirkung dieses Vorganges auf die natürliche, künstliche passive und active Immunität des Thieres zu beobachten. Dies ist mir bei meinen Experimenten gelungen.

Zu diesem Behufe musste ich mir, da ich die Untersuchungen grössten-

[1] A. a. O. [2] A. a. O.

theils an Meerschweinchen ausführte, Meerschweinchen-Anticomplement herstellen, also ein Serum, welches die im normalen Meerschweinchenserum vorhandenen Complemente zu binden vermag. Dies gelingt sehr leicht, indem man Kaninchen nach dem Vorgange Bordet's und Ehrlich's mit ganz frischem, also möglichst viel Complemente enthaltendem normalen Meerschweinchenserum vorbehandelt. Nach einiger Zeit, etwa 14 bis 20tägiger subcutaner Vorbehandlung mit je 6 ccm Serum in 1tägigen Intervallen, wird das Serum des Kaninchens entzogen, 1 Stunde auf 55° erhitzt und in vitro auf Anticomplement geprüft. Man kann diese Prüfung eben so gut an einem bactericiden als an einem hämolytischen Serum ausführen, doch ist letztere, da sofort und leicht sichtbar, weit bequemer.

Ich pflegte dieselbe folgendermaassen vorzunehmen: Normales Meerschweinchenserum ist für Kaninchenblut nicht stark, aber deutlich lösend.[1]

Inactivirt man nun Meerschweinchenserum durch halbstündiges Erwärmen auf 55°, so wird durch Zusatz einer kleinen Menge frischen Meerschweinchenserums in Folge des darin enthaltenen Complementes die Lösungskraft wiederhergestellt. Mischt man indessen vor dem Zusetzen des frischen complementhaltigen Meerschweinchenserums diesem abgestufte Mengen von Serum eines mit Meerschweinchenserum vorbehandelten Kaninchens zu, so bleibt nun, bei Erreichung der genügenden Menge, die Reactivirung des inactiven Meerschweinchenserums aus, indem die haptophore Gruppe des Complementes im frischen Meerschweinchenserum von dem Anticomplement des Kaninchenserums gesättigt und so an dem Zutritt zur complementophilen Gruppe des Zwischenkörpers verhindert wird. Noch schöner sichtbar tritt die Wirkung des Anticomplementes auf, wenn man, wie Bordet, statt normalen inactivirten Meerschweinchenserums, solches von einem vorher mit Kaninchenblut vorbehandelten Meerschweinchen verwendet. Die Lösungskraft für Kaninchenblut eines derartigen Serums nach Reactivirung ist natürlich weit stärker als diejenige normalen Meerschweinchenserums, und daher ist auch der sichtbare Unterschied, welchen der Zusatz von Complement und von Complement-Anticomplementmischung hervorruft, ein weit prägnanterer.

Allerdings bestimmen wir mit dieser Methode nur das dem Kaninchenhämolytischen Complemente entsprechende Anticomplement. Da wir indessen, wie schon oben kurz bemerkt, im Serum sehr viele verschiedene Complemente und daher im Anticomplementserum diesen entsprechende Anticomplemente anzunehmen haben, so giebt sensu strictori diese quantitative

[1] Ich verwendete stets 5 ccm 5 procent. Kaninchenblutaufschwemmung in 0·85 ccm NaCl-Lösung. Die Blut-Serummischungen blieben 2 Stunden bei 37°.



Bestimmung eines einzigen hämolytischen Anticomplementes noch keinen sicheren Massstab über den Gehalt an anderen, besonders zu baktericiden Complementen passenden Anticomplementen. In der That sind mir einige Male Serumarten vorgekommen, welche nur sehr wenig hämolytisches Anticomplement und trotzdem, wie aus Versuchen mit baktericidem Immunserum hervorging, einen sehr starken Gehalt an baktericidem Anticomplement gegenüber Typhus besassen, eine Thatsache, die gleichfalls sicher für die Vielheit der Complemente spricht. In der weit überwiegenden Mehrzahl der Fälle dagegen konnte ich, falls die Prüfung das Vorhandensein von zu hämolytischem Complement passenden Anticomplement ergab, stets auch das Vorhandensein entsprechender Mengen der den baktericiden Complementen entsprechenden Anticomplemente nachweisen, so dass also die obige Methode einen für praktische Zwecke genügenden Rückschluss auch auf die Quantität der übrigen Anticomplemente gestattet. Der Anticomplementgehalt im Serum ist genügend, wenn 2 Theile des, wie schon oben angegeben, vorher eine Stunde auf 55° erhitzten, anticomplementhaltigen Serums einen Theil frischen Meerschweinchenserums neutralisiren. Sind also beispielsweise zum Reactiviren 0·3 ccm frischen Meerschweinchenserums nöthig, so müssen 0·6 ccm Anticomplement diese reactivirende Wirkung aufheben.[1]

Ich habe nun meine Experimente, die zunächst die Frage betrafen, ob überhaupt in vivo Complemente vorhanden sind und welche Rolle dieselben bei der natürlichen Resistenz spielen, hauptsächlich an Meerschweinchen mit Typhus abdominalis, ausgeführt. Der Typhusbacillus eignet sich zu diesen Versuchen aus mehreren Gründen besonders gut. Der Meerschweinchenorganismus besitzt gegenüber der Infection mit Typhusbacillen eine ausgesprochene angeborene Resistenz, so dass er auch von der virulentesten Cultur grosse Mengen Typhusbacillen für sich unschädlich zu machen vermag und erst bei der Infection mit relativ grossen Mengen Bacillen, für welche seine natürlichen Schutzkräfte nicht mehr ausreichen, der Infection erliegt. Es genügt also für die Infection mit Typhus nicht etwa wie mit Milzbrand oder Tuberculose eine einfache Impfung mit einem oder mehreren Bacillen, sondern es bedarf zur Tödtung des Thieres der Injection von Millionen Typhusbacillen, und selbst bei diesen Massen geht das Thier erst sicher zu Grunde, wenn wir die Infection direct in das Peritoneum verpflanzen. Bei subcutaner Infection liegt die Dosis letalis certe efficax noch bedeutend höher. Diese ausgesprochene natürliche Resistenz lässt sich nun, wie Issaeff[2] und

[1] Ich habe bei meinen Versuchen oft auch weit stärkeres Anticomplement erzielt, doch ist dies unnöthig.

[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. XVI.

R. Pfeiffer und Kolle[1] zeigten, sehr leicht noch erhöhen, indem die subcutane oder besonders intraperitoneale vorherige Injection aller möglichen Flüssigkeiten, normales Serum, Bouillon, Urin, Tuberculin, andersartige Culturen u. s. w., die Meerschweinchen gegenüber dem mehrfachen Multiplum einer für normale Thiere sicher tödtlichen Typhusdose widerstandsfähig macht. Ja selbst die gleichzeitig mit der Culturinjection vorgenommene Injection von allen möglichen Flüssigkeiten, besonders normalen Serums, erhöht die Resistenz sehr und setzt die tödtliche Dose bedeutend herauf. So schützt 1 bis 2 ccm normalen Serums, gleichzeitig mit der Cultur gegeben, Meerschweinchen gegen eine Oese sehr virulenter Typhusbacillen, während dieselbe Menge Cultur in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt alle Thiere tödtet. Das Vehikel und dessen Volum, in welchem die betreffende Typhusculturmenge suspendirt ist, spielt also bei Typhusversuchen wegen dieser leicht zu erhöhenden angeborenen Resistenz der Meerschweinchen nach Issaeff, R. Pfeiffer und Kolle eine hervorragende Rolle. Aus allen diesen Ursachen ist die Typhusinfection an Meerschweinchen ein vorzüglich geeignetes Experimentalgebiet zu Studien über die angeborene Resistenz, zumal wir bei ihr alle intraperitonealen Vorgänge während des Versuches durch kleine mittels Glascapillaren entnommene Exsudatproben mikroskopisch verfolgen können.

Die von mir verwendete Typhuscultur hat eine mittlere Virulenz, so dass Meerschweinchen von circa 200 grm bei intraperitonealer Infection mit $^1/_{15}$ Oese (zu 2 mg Fassungsgewicht) einer 24stündigen Agarcultur in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt, erst subacut in 5 bis 6 Tagen zu Grunde gehen, bei geringeren Mengen als $^1/_{20}$ Oese am Leben bleiben, die intraperitoneale Infection mit $^1/_2$ und 1 Oese dieser Cultur in 1 ccm Bouillon tödtet ausnahmslos innerhalb 10 Stunden. Die gleichzeitige intraperitoneale Injection von 2 bis 3 ccm normalen Kaninchenserums erhöht die angeborene Resistenz gegenüber dieser Cultur derart, dass unter diesen Umständen selbst die intraperitoneale Injection von 1 Oese Typhus von sämmtlichen Thieren überstanden wurde. Schon nach $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde war unter diesen Umständen das Peritoneum der inficirten Thiere frei von beweglichen Typhusbacillen, also alle Bakterien durch die natürlichen Kräfte des Organismus abgetödtet und in Auflösung begriffen.

Welchen Einfluss auf diese natürliche Resistenz hat nun die gleichzeitig mit der Infection erfolgende Einverleibung von Serum, das gegenüber den Complementen des Meerschweinchenserums anticomplementhaltig ist? Nachfolgende Versuchstabelle I möge dies zeigen.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXI.



Tabelle I.

Meerschw. I	Meerschw. II	Meerschw. III	Meerschw. IV
5. XII. 1900. $^1/_{25}$ Oese Typh. in 1 ccm Bouillon gleichzeitig mit 3 ccm Anticomplement-Ser. intraperitoneal, nach 1 Stunde im Periton. massenhaft bewegliche Typhusbac. Abends †. Obduction: massenhaft Typhusbac. im Periton.	5. XII. 1900. $^1/_{25}$ Oese Typh. in 1 ccm Bouillon gleichzeitig mit 2 ccm Anticomplement-Ser. intraperitoneal, nach 1 Std. derselbe Befund wie vorstehend. 6. XII. † gefunden. Obduction: Typhusbacillen im Periton.	5. XII. 1900. $^1/_{25}$ Oese Typh. in 1 ccm Bouillon intraperitoneal gleichzeitig mit 3 ccm normalen, vorher auf 55° erwärmten Kaninchen-Serum, nach 1 Stunde Peritoneum fast steril. 4. XII. munter, lebt.	5. XII. 1900. $^1/_{25}$ Oese Typhus in 1 ccm Bouillon intraperitoneal, nach 1 Stunde im Periton. wenige unbewegliche Typhusbacillen. 8. XII. munter, lebt.

Der vorstehende Versuch I, den ich an einer grösseren Reihe von Meerschweinchen mit von verschiedenen Kaninchen stammendem Anticomplemente stets mit dem gleichen Erfolge wiederholte, ergiebt uns ein sehr wichtiges und klares Resultat. Die Einverleibung von Anticomplement setzt die natürliche Resistenz des Meerschweinchens gegenüber der Typhusinfection stark herab. Während alle Thiere ohne Anticomplementverabreichung die Typhusbacillen vernichteten und am Leben blieben, sind die mit Anticomplement acut der fortschreitenden Infection erlegen. Diese Herabsetzung der natürlichen Resistenz durch die Anticomplemente ist um so stärker, als, wie schon erwähnt, die gleichzeitige Injection von normalem nicht anticomplementhaltigem Kaninchenserum im Gegentheil die angeborene Resistenz bedeutend erhöht, so dass die Thiere dann selbst sehr hohe Dosen von Typhus vertragen, wie nachfolgender Versuch zeigt.

Tabelle II.

Meerschw. I	Meerschw. II	Meerschw. III	Meerschw. IV
1. XI. 1900. 1 Oese Typhus + 3 ccm Anticomplement intraper., nach 1 Stunde massenhaft bewegl. Typhusbacillen, zahlreiche Leukocyten. Abends †.	1. XI. 1900. 1 Oese Typhus + 3 ccm norm. Kaninchenserum (vorher 1 Stunde auf 58° erhitzt) nach 1 Stunde Peritoneum fast steril. 2. XI. munter lebt.	1. XI. 1900. 3 ccm Anticomplement intraperitoneal. Munter, lebt.	1. XI. 1900. 1 Oese Typhus in 1 ccm Bouillon. Abends †.

Wir sehen aus vorstehendem Versuche, dass in der That normales Kaninchenserum die Resistenz stark erhöht, während das Thier mit der gleichen Menge Anticomplementserums an dieser starken Dose natürlich acut zu Grunde ging. Thier III zeigt uns, dass die Einverleibung von 3 ccm Anticomplement allein nicht die geringsten krankhaften Störungen



bei Meerschweinchen hervorruft. Die gleichen Versuche habe ich auch mit Staphylococcus aureus an intraperitoneal inficirten Meerschweinchen gemacht. Dieselben ergaben ganz analoge Resultate, weshalb ich sie der Kürze halber hier nicht in extenso anführe.

Da nun, wie wir aus den Untersuchungen von Bordet[1], Ehrlich und Morgenroth[2] wissen, ein Anticomplement ein streng specifischer Körper ist, der ausschliesslich nur Complement bindet und ausschaltet, genau wie beispielsweise das Diphtherie-Antitoxin das Diphtherie-Toxin, so können wir aus den vorstehenden Versuchen den wichtigen Schluss ziehen, dass im lebenden Organismus und nicht nur im postmortalen extravasculären Serum Complemente bezw. Alexine[3] vorhanden sind und diesen eine bedeutende Rolle bei den Ursachen der angeborenen Resistenz zukommt, wie dies Buchner u. A. seit Langem in ihren Arbeiten vertraten.

Injiciren wir nun das anticomplementhaltige Serum statt gleichzeitig mit der Cultur mehrere Stunden vorher und inficiren nachher, so tritt keine Herabsetzung der Resistenz mehr ein. Es erklärt sich dies leicht aus den Resultaten der unter meiner Leitung angefertigten Arbeit von Schütze und Scheller[4], welche auf einem anderen Wege das intravitale Vorhandensein von Complementen und deren Aufbrauch nachwiesen sowie vor Allem zeigten, dass die Regeneration der gebundenen bezw. verbrauchten Complemente bereits nach einigen Stunden wieder vollendet ist. Nachfolgende Versuche (Tabelle III) zeigen dies.

Fragen wir uns weiter, ob diese von uns in den bisherigen Versuchen erwiesene Rolle der Complemente oder Alexine für die natürliche Resistenz die einzige Ursache für diese, sowie überhaupt für die angeborene Immunität ist, so müssen wir dies verneinen. Ich werde später noch auf den ersteren Punkt zurückkommen. Hier möchte ich vor Allem nunmehr die zweite Frage beantworten, ob wir eine ursächliche Rolle der Complemente für alle Arten von natürlicher Immunität annehmen dürfen.

[1] A. a. O. [2] A. a. O.

[3] Auf den Unterschied zwischen dem Buchner'schen und Bordet'schen einheitlichen Alexin und den multiplen aus haptophorer und zymotoxischer Gruppe bestehenden Ehrlich'schen Complementen habe ich schon vorher hingewiesen. — Inzwischen ist sowohl Müller (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1901) wie Ehrlich u. Morgenroth (*Berliner klin. Wochenschrift*) der thatsächliche experimentelle Beweis gelungen, dass die Complemente aus haptophorer und zymotoxischer Gruppe bestehen. Die inactivirten Complemente, welche die zymotoxische Gruppe in Folge Erwärmung auf 55° verloren haben, dagegen die thermostabilere haptophore Gruppe noch besitzen und daher auch noch Anticomplemente erzeugen können, nennt Ehrlich in Analogie zu den Toxoiden Complementoide.

[4] *Diese Zeitschrift*. Bd. XXXVI. S. 459.



Tabelle III.

Meerschweinchen I	Meerschweinchen II
9. I. 1901. 8 ccm Anticomplement-Serum intraperitoneal, nach 5 Stunden 1 Oese Typhus intraperitoneal, nach 1 Stunde fast steril, sehr starke Leukocytose im Peritoneum. 10. I. munter, lebt.	21. I. 1901. 3 ccm Anticomplement-Serum intraperitoneal. — 22. I. 1 Oese Typhus intraperitoneal, nach 1 Stunde sehr wenige, theils degenerirte unbewegliche Typhusbacillen, massenhaft Leukocyten. 23. I. munter, lebt.

Auch die natürliche Immunität hat ihre verschiedenen Grade, wie die künstliche. Während, wie wir gesehen haben, das Meerschweinchen von Haus aus eine Resistenz gegen Typhus besitzt, so dass es niemals spontan an Typhusinfection erkrankt, grösseren einverleibten Mengen von Typhusbacillen aber sicher erliegt, so können wir von diesem Punkte an eine genaue Stufenleiter der natürlichen Immunität bei verschiedenen Thierarten für gewisse Infectionen bis herauf zu vollständiger Unempfänglichkeit feststellen. So besitzt die Taube für Milzbrand schon einen viel höheren Grad der natürlichen Immunität, für Tetanus einen noch stärkeren, und für Influenzabacillen, Lepra (excidirte und emulsionirte Knoten mit massenhaften Bacillen) u. s. f. verhalten sich unsere Laboratoriumsthiere völlig refractär.

Ich habe nun allen diesen Infectionen gegenüber den Einfluss der Complemente durch Bindung vermittelst Anticomplemente studirt. Nur für die Immunität der Tauben gegenüber Milzbrand konnte ich, und auch hier möchte ich mich sehr zurückhaltend aussprechen, nach meinen Experimenten vielleicht einen Zusammenhang zwischen der natürlichen Immunität und den Complementen des Serums nachweisen, indem von den mit Anticomplement[1] behandelten und gleichzeitig subcutan inficirten Tauben ca. ein Drittel mehr der Infection erlagen als von den Controlthieren. Doch musste auch in diesen Fällen die Infection eine sehr starke sein, eine grosse Oese einer hochvirulenten Cultur. Also jedenfalls ist hier ausser den Complementen noch ein anderer Factor die Hauptursache der Immunität.

Bei den übrigen obengenannten Infectionen: Influenzabacillen, Lepra, gegen welche, wie oben erwähnt, Meerschweinchen sich völlig refractär verhalten, konnte ich einen Einfluss der Anticomplemente überhaupt nicht verzeichnen. Die Immunität der Meerschweinchen gegenüber diesen Affectionen muss also noch auf anderen Ursachen beruhen als die an-

[1] Das Anticomplement wurde durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Taubenserum gewonnen.

geborene Resistenz gegenüber Typhus und Staphylokokken, falls wir nicht die unwahrscheinliche Annahme machen wollen, dass gerade die für diese Infection in Frage kommenden Complemente keine Anticomplemente bildeten und daher von unserem Anticomplementserum nicht gebunden wurden. Ich kann daher auf Grund aller dieser Experimente den Complementen bezw. Alexinen nur eine ausschlaggebende intravitale Rolle zuschreiben für die Ursachen der angeborenen „Halb-Immunität", wie ich diesen Zustand nennen möchte, bei dem also Individuen beträchtlichen Mengen eines Infectionserregers widerstehen, demnach niemals spontan an der betreffenden Infection erkranken, grösseren eingebrachten Mengen aber regelmässig erliegen. Es entspricht, wie wir sehen, dieser Zustand am meisten dem, was wir in der menschlichen Pathologie als Disposition und Prädisposition bezeichnen. Weiterhin sind die Complemente, wie sich leicht im Experimente zeigen lässt, die Ursache für den acuten oder subacuten bezw. chronischen Verlauf mancher Infectionen, wie nachfolgender Versuch demonstrirt.

Tabelle IV.

Meerschweinchen I	Meerschweinchen II
4. I. 1901. $^1/_{15}$ Oese Typhus und 3 ccm Anticomplement intraperitoneal.	4. I. 1901. $^1/_{15}$ Oese Typhus intraper.
5. I. Morgens † gefunden, im Peritoneum sehr viele Typhusbacillen.	5. I. munter.
	6. I. „
	7. I. magert ab.
	8. I. „
	9. I. „
	10. I. †. Im Peritoneum sehr viele Leukocyten, mässig viele Typhusbacillen.

Nachdem wir durch die bisherigen Versuche die Wichtigkeit der Complemente für viele Vorgänge bei Infectionen kennen gelernt haben, wollen wir uns nunmehr zur Erörterung der Frage nach der Quelle der Complemente wenden. Auch diesen Punkt habe ich experimentell durch den Thierversuch zu lösen versucht, da die bisherigen Experimente in vitro, welche in den Leukocyten die Quelle der baktericiden Kraft des Serums suchten und in der Art angestellt wurden, dass man Leukocyten auflöste und den Extract auf Baktericidität prüfte, oder die baktericide Kraft leukocytenreicher Exsudate mit der des Serums verglich, keine sichere Entscheidung der Frage brachten, ob die Leukocyten wirklich die Quelle der baktericiden Kraft des Serums seien. Metschnikoff und Buchner sind die Hauptverfechter der Ansicht, dass die Leukocyten die

Matrix der bakterieiden Körper seien, eine Ansicht, welche durch die Experimente dieser Autoren sowie von **Hahn**, **Schattenfroh**, Bail, **Havet**, **Jacob**, **van der Velde**, **Denys**, **Laschtschenko** u. A. m. gestützt, von dem leider so früh verstorbenen **Moxter** dagegen auf Grund seiner Experimente bestritten wurde.

Diese Frage dürfte nun durch Versuche ausserhalb des lebenden Organismus überhaupt schwer einwandsfrei zu beantworten sein. Denn einerseits ist das Maceriren und Auflösen der Leukocyten ein immerhin so eingreifender Act, dass selbst wenn in den Leukocyten Complemente vorhanden sind, diese labilen Körper unter diesen Umständen zum grössten Theil zerstört werden. Andererseits ist ein Extract von Leukocyten ein chemisch und physikalisch so sehr von den gewöhnlichen Nährböden unterschiedenes Medium, dass auch beim positiven Ausfalle, also beim Untergange vieler Bakterien in demselben, die Gegner der vitalen Auffassung der baktericiden Kräfte genügend Anhaltspunkte gegen das Beweisende eines solchen Versuches haben.

Dahingegen ist dieser Punkt ganz einwandsfrei zu lösen, wenn es gelingt, durch Vorbehandlung von Thieren mittels Leukocyten, welche von jeder Spur Serums befreit sind, specifische Anticomplemente zu erzielen. Ich habe derartige Versuche angestellt, indem ich Meerschweinchen, längere Zeit hindurch, mehrmals gewaschene und abcentrifugirte sterile Kaninchenleukocyten aus Aleuronatexsudaten der Pleura intraperitoneal injicirte. In der That erhielt ich sodann in dem Serum dieser Meerschweinchen schwache aber deutliche Anticomplemente gegenüber den Complementen des Kaninchenserums. Ich prüfte dieselben in der Art, dass ich zu frischem Kaninchenserum, welches Ziegenblut löst, das Anticomplement in genügender Menge zumischte und constatirte, dass dann die Lösung ausblieb bezw. verringert wurde, während vermehrter Zusatz von Complement die Lösungsfähigkeit wieder herstellte. Tabelle V möge einen derartigen Versuch zeigen.

Tabelle V.

Grosses Meerschweinchen.

29. XII. 1900. Die drei Mal mit physiol. Kochsalzlösung gewaschenen und abcentrifugirten Leukocyten aus zwei Pleura-Exsudaten von Kaninchen intraperitoneal.

6. I. 1901. desgl.

12. I. „ „

18. I. „ „

24. I. „ „

3. II. Meerschweinchen wird entblutet, das abgeschiedene Serum eine Stunde auf 56° erwärmt.



Prüfung des Serums vorstehenden Meerschweinchens auf Anticomplement.

5. II. 1901. 3 ccm 5 procent. Ziegenblut in physiol. NaCl-Lösung mit 1 ccm frischen Kaninchenserums versetzt und bei 37° aufbewahrt: nach einer Stunde complete Lösung.

3 ccm 5 procent. Ziegenblut in physiol. NaCl-Lösung mit Gemisch von 1 ccm frischen Kaninchenserums und 2 ccm des inactivirten von leukocytenbehandeltem Meerschweinchen stammenden Serums versetzt und bei 37° belassen: nach einer Stunde kaum Beginn von Lösung.

Erneuter Zusatz von frischem Kaninchenserum: nach einigen Minuten Lösung complet.

3 ccm 5 procent. Ziegenblut in physiol. NaCl-Lösung mit Gemisch von 1 ccm frischen Kaninchen- und 2 ccm inactivirten normalen Meerschweinchenserums versetzt, bei 37° belassen: nach einer Stunde bis auf kleine Kuppe Lösung complet.

Wir ersehen aus dem vorstehenden Versuche, dass entsprechend den Ansichten von Metschnikoff, Buchner, Bordet u. A. thatsächlich die Leukocyten eine Quelle der Complemente sind, da sie im lebenden Thierkörper Anticomplemente zu bilden vermögen. Ich glaube indessen nicht, dass die Leukocyten die einzige und ausschliessliche Quelle der Complemente bilden, denn sonst müssten die mit grossen Mengen Leukocyten vorbehandelten Thiere bedeutend mehr Anticomplement gebildet haben. Vielmehr dürften auch andere Organzellen für die Bildung von Complementen in Frage kommen, was auch bei der Vielheit der Complemente im Serum durchaus naheliegend ist. Es wäre eine naturwissenschaftlich kaum zu fassende Annahme, dass eine einzige Zellenart alle im Organismus vorkommenden Arten von Complementen zu bilden vermag. So weist beispielsweise das Experiment von Ehrlich und Morgenroth[1], welche nach Leberzerstörung in Folge Phosphor ein Complement aus dem Serum schwinden sahen, auch auf die Leber als eine Bildungsstätte für diese Körper hin. Wir werden später sehen, dass den Complementen eine so allgemeine biologische Aufgabe im lebenden Organismus zukommt, dass ihre Bildung wohl eine auf die meisten, vielleicht alle mesodermalen Zellen vertheilte Einrichtung ist. Es müsste zu diesem Zwecke versucht werden, ob nicht auch die Vorbehandlung von Thieren mit gänzlich von Serum befreiten anderen Organzellen als den Leukocyten Anticomplemente erzielt. Die Thatsache aber, dass die Leukocyten eine Quelle der Complemente sind, weist jedenfalls darauf hin, dass auch diesen Elementen neben den Complementen eine ursächliche Rolle bei der angeborenen Resistenz zukommt.

[1] A. a. O.



B. Ueber die künstliche Immunität.

Wir unterscheiden bekanntlich bei der künstlichen Immunität die active und die durch Immunserum übertragene passive Immunität. Je nachdem dabei antitoxische oder baktericide Substanzen des Serums (vgl. oben Einleitung) mitwirken, kann die künstliche Immunität eine specifisch antitoxische oder specifisch baktericide sein. Zu diesen vier Arten von specifischer Immunität kommt nun noch der Zustand, welchen R. Pfeiffer als künstliche nicht specifische Resistenz bezeichnet. Diese besteht darin, dass ein Thier, welchem, wie schon oben erwähnt, eine gewisse Menge von irgend einer Flüssigkeit, Serum, Urin, Tuberculin, Bouillon, physiologische Kochsalzlösung einverleibt wird, sofort nach der Injection für ein mehrfaches Multiplum der tödtlichen Dose verschiedene Bakterienarten widerstandsfähig wird, ohne dass in seinem Serum vermehrte Immunstoffe auftreten. Auch ist dieser Zustand sehr rasch vorübergehend. Schon einige Tage nach der Injection der betreffenden Substanz ist die erhöhte Resistenz wieder geschwunden.

Bei meinen Versuchen über die feineren Vorgänge während der künstlichen Immunität im lebenden Organismus habe ich mich zunächst mit dem Mechanismus der Wirkung des specifisch baktericiden Immunserums beschäftigt.

Wie aus der Einleitung erinnerlich ist, besagen uns die Versuche von Metschnikoff[1], Bordet[2], Ehrlich und Morgenroth[3], dass zur Wirkung eines specifisch baktericiden bezw. hämolytischen Serums zwei Substanzen, der Immunkörper und das Complement, erforderlich sind. Diese Resultate sind durch Experimente in vitro gewonnen, und es musste daher wie schon erwähnt vor Allem aus den schon oben erwähnten und aus praktischen Gründen wichtig erscheinen, ob auch im lebenden Organismus den Complementen diese ausschlaggebende Rolle bei der baktericiden Immunität zukommt.

Die Versuchsanordnung zur Lösung dieser Frage war eine sehr einfache. Wenn die Complemente des normalen lebenden Organismus zum Inkrafttreten des specifisch baktericiden Immunserums unumgänglich nöthig sind, dann muss das complementfreie also nur aus Immunkörper bestehende Immunserum seine Wirkung in einem Thiere, dessen Complemente wir durch Anticomplemente gebunden haben, verlieren. Dies ist der Fall, wie die nachfolgende Tabelle klar ergiebt. Das zu dem Versuche benutzte Typhusimmunserum stammte von einem gegen Typhus immunisirten Esel. Sein Titre war derart, dass 0.001 bei Mischung

[1] A. a. O. [2] A. a. O. [3] A. a. O.

gegen 1 Oese Typhus schützte, bei 0·0005 starben die Thiere. Es war mit 0·5 Procent Carbol versetzt und circa 2 Monate alt, also frei von Complementen.

Tabelle VI.

Meerschw. I	Meerschw. II	Meerschw. III	Meerschw. IV	Meerschw. V
4. XII. 1900. 1 Oese Typhus gemischt mit 0·002 Typh.-Immunser. + 3 ccm Anticomplement intraperitoneal, nach 1 Stunde sehr zahlreiche Typhusbacillen. 5. XII. †. Im Peritoneum Typhusbacillen.	4. XII. 1900. 1 Oese Typhus gemischt mit 0·003 Typh.-Immunser. + 3 ccm Anticomplement intraperiton., n. 1 Stde. noch sehr zahlreiche bewegl. Typhusbacillen. 5. XII. †. Typhusinfection.	4. XII. 1900. 1 Oese Typhus gemischt mit 0·004 Typh.-Immunser. †. 3 ccm Anticomplement intraperiton., n. 1 Stde. zahlr. Typhusbaciilen. 5. XII. †. Typhusinfection.	4. XII. 1900. 1 Oese Typhus gemischt mit 0·001 Typh.-Immunser. intraperitoneal, nach 1 Stunde nur mehr wenige unbewegliche Typhusbacillen. 5. XII. munter lebt.	4. XII. 1900. 1 Oese Typhus gemischt mit 0·002 Typh.-Immunser. intraperitoneal, nach 1 Stunde nur wenige unbewegliche deg. Typhusbacillen. 5. XII. munter lebt.

Das Resultat der vorstehenden Versuchsreihe ist ein sehr klares und beweisendes. Während 0·001 ccm des Immunserums ein normales Thier gegenüber einer Oese Typhus schützt, vermag selbst das Vierfache dieser Dose, also 0·004 Immunserum, ein Thier, dessen Complemente durch das Anticomplement gebunden sind, nicht vor der Infection zu retten. Damit ist der Beweis erbracht, dass das specifisch baktericide Immunserum ganz im Einklange mit den oben erwähnten Resultaten von Metschnikoff, Bordet, Ehrlich und Morgenroth im lebenden Organismus nicht zu wirken vermag, wenn es nicht sein Complement dort genügend und frei vorfindet, eine praktisch äusserst wichtige Thatsache.

Ich habe dann weiterhin die Frage in das Bereich meiner Versuche gezogen, ob nicht, wie wir es bei den Antitoxinen und Toxinen, sowie bei manchen Thatsachen in der Chemie sehen, durch Einverleibung grösserer, concentrirter Mengen von specifisch baktericidem Immunkörper, die Affinität zwischen diesem und dem Complement vermehrt wird, so dass also das Complement dann trotz Anwesenheit des Anticomplementes an die complementophile Gruppe des Immunkörpers geht und so das Thier am Leben bleibt. Es ist dies ein auch praktisch wichtiger Punkt, da wir durch die Untersuchungen v. Dungern's[1] wissen, dass die Complemente unter

[1] *Münchener med. Wochenschrift.* 1900.

Umständen von den Organen verankert werden können und es daher von Wichtigkeit ist, ob durch Mehreinfuhr von Immunserum eventuell auch solches nicht freies Complement durch Vermehrung der Affinität zur Vereinigung mit dem Immunkörper gebracht werden kann.

Dies ist mir in einer Reihe von Versuchen gelungen. Durch Injection sehr grosser Multipla von specifischem Immunserum blieb eine Reihe von Thieren trotz Anticomplementes am Leben, indem hier durch Massenwirkung des Immunkörpers die Affinität zwischen diesem und dem Complement grösser wurde als zwischen Complement und Anticomplement. Praktisch folgt hieraus, dass die Anwendung möglichst grosser Gaben Immunserums, weit über die nach theoretischer und Körpergewichtsberechnung nöthige Menge herausgehend, bei Heilinjectionen wissenschaftliche Begründung hat.

Tabelle VII.

Meerschweinchen I	Meerschweinchen II	Meerschweinchen III
10. XII. 1900. 1 Oese Typh. + 0·2 Immunserum + 3 ccm Anticomplem.-Serum intraperitoneal. — Nach 1 Stunde sehr wenige Typhusbacillen. 11. XII. munter, lebt.	10. XII. 1900. 1 Oese Typh. + 0·004 Immunserum + 3 ccm Anticomplement-Serum intraperiton. — Nach 1 Std. zahlreiche bewegl. Typhusbacillen. 11. XII. † Typhusinfection.	10. XII. 1900. 1 Oese Typh. + 0·001 Immunserum intraperitoneal. — Nach 1 Stunde wenige bewegliche Typhusbacillen. 11. XII. munter, lebt.

Die Anwendung des 200 fachen Multiplums der immunisirenden Serumdose schützte also das Thier trotz Anticomplementes aus den soeben auseinandergesetzten Gründen, während das nur mit dem vierfachen Multiplum behandelte der Infection erlag.

Während wir aus den bisherigen Versuchen die Wichtigkeit der Complemente für alle baktericiden Vorgänge im lebenden Organismus kennen gelernt haben, spielen dieselben nach den in der Einleitung gegebenen Auseinandersetzungen für die antitoxische Immunität, bei der sich einfach nur Gift und Antitoxin ohne Mitwirkung eines dritten Körpers binden, keine Rolle. Wenn dies richtig ist, dann darf ein antitoxisches Serum durch Anticomplement nicht in seiner Wirkung im lebenden Organismus herabgesetzt werden.

Das zu diesen Versuchen nöthige genau titrirte antitoxische Serum (Diphtherieserum), sowie das Standardgift verdankte ich der Liebenswürdigkeit des Hrn. Geheimrath Ehrlich.



Das Serum war 17fach normal, das Gift so eingestellt, dass bei der Mischung von 0·45 Gift mit einer Immunitätseinheit noch ein geringer Giftüberschuss bleibt, und ein 250 grm schweres Meerschweinchen nicht vor dem sechsten Tage nach der Injection sterben darf.

Tabelle VIII.

Meerschweinchen I, 253 grm	Meerschweinchen II, 246 grm
1. III. 1901. 4 ccm Diphtherieserum (Verdünnung 1:68) = eine I.-E. + 0·45 Diphtheriegift + 3 ccm Anticomplem.-Serum subcutan.	1. III. 1901. 4 ccm Diphtherieserum (Verdünnung 1:68) = eine I.-E. + 0·45 Diphtheriegift subcutan.
2. III. mässiges Infiltrat, ziemlich weich.	2. III. deutlicher Strang.
3. III. desgl.	3. III. etwas stärker.
4. III. magert ab.	4. III. progredient.
8. III. dyspnoisch, Abends †. Obduction: Diphtheriebefund.	5. III. desgl.
	9. III. † Obduction: Diphtheriebefund.

Wir ersehen somit, dass bei dem antitoxischen Serum im Gegensatze zu dem baktericiden die Bindung der Complemente im lebenden Organismus keinen Einfluss hat.

Ein weiterer Punkt in der Immunitätslehre, der uns wissenschaftlich und praktisch interessiren muss, ist die Frage, ob auch bei der activen baktericiden Immunität den Complementen eine ebenso wichtige Stellung zukommt, wie wir sie bisher bei der passiven kennen gelernt haben. Es ist ja bekannt, dass im Anfange der Entwickelung, als die ersten Befunde über das Immunserum bekannt wurden, die Ansichten sehr darüber aus einander gingen und auch heute noch nicht einig sind, ob die Anwesenheit des Immunserums und besonders des baktericiden Immunserums im Organismus die Ursache der activen Immunität des Trägers seien. So nahm selbst der Schöpfer der Blutserumtherapie v. Behring eine in den Geweben und eine andere im Vorhandensein des Immunserums begründete active Immunität an. Und in der That sehen wir gerade bei denjenigen Vertretern der activen Immunität, die ausschliesslich grosse praktische Verbreitung gefunden haben, wie bei den Schutzpocken, der Hundswuth und der Tuberculinimpfung, keine besonderen Mengen von specifischen Immunkörpern im Serum auftreten, während umgekehrt diejenigen Vertreter der activen Immunität, bei welchen wir grosse Mengen specifischer Immunkörper im Blute finden, wie bei Typhus, Cholera, Pest u. a. m., sich keiner allgemeinen Anerkennung für die Praxis bis jetzt erfreuen.



Ich konnte nun für die active Immunität bei Typhus den Nachweis liefern, dass hier die active Immunität thatsächlich an das Vorhandensein des specifisch baktericiden Serums im activ immunisirten Organismus gebunden ist, denn die Bindung der Complemente, also die Ausschaltung des specifischen Immunserums lässt sofort die active Immunität verschwinden, wie die nachfolgende Versuchstabelle klar zeigt.

Tabelle IX.

a) Active Immunisirung zweier Meerschweinchen gegen Typhus abdominalis.

Meerschweinchen I	Meerschweinchen II
19. I. 1901. 2 Oesen abget. Typh. intrap.	19. I. 1901. 2 Oesen abget. Typh. intrap.
26. I. ½ Oese Typhus lebend intraperit.	26. I. ¼ Oese Typhus lebend intraperit.
30. I. ½ Oese desgl.	30. I. ½ Oese desgl.
6. II. 1 Oese desgl.	6. II. 1 Oese desgl.

b) Prüfung vorstehender Thiere auf active Immunität.

Meerschweinchen I, activ immun	Meerschweinchen II, activ immun	Meerschweinchen III, normale Controle
18. II. 1901. 1 Oese Typhus intraperitoneal.	18. II. 1901. 1 Oese Typhus intraperitoneal.	18. II. 1901. 1 Oese Typhus intraperitoneal. Abends †.
19. II. munter, lebt.	19. II. munter, lebt.	

c) Versuch, ob die active Typhusimmunität vorstehender Meerschweinchen I und II auf der Anwesenheit des specifisch baktericiden Immunserums in ihrem Organismus beruht.

Meerschweinchen I	Meerschweinchen II
25. II. 1901. 1 Oese Typhus + 3 ccm Anticomplement intraperiton., nach 1 Std. sehr zahlreiche bewegl. Typhusbac. im Peritoneum.	27. II. 1901. 1 Oese Typhus + 3 ccm Anticomplement intraperiton., nach 1 Std. bewegl. Typhusbacillen im Periton.
26. II. 1901 †. Typhus-Infection.	28. II. 1901 †. Typhus-Infection.

Wir ersehen somit, dass die active Immunität der Meerschweinchen gegen Typhus durch Ausschaltung der Complemente aufgehoben wird, also auf ihrem Gehalt an Immunserum beruht.

Es wäre wichtig zu untersuchen, wie sich dies für andere Arten activer Immunität verhält, besonders für die langdauernde Vaccine- oder

Rabiesimmunität, und ob wir dann hier nicht denselben Befund erheben können wie bei der schon erörterten natürlichen Immunität, dass gerade wie auch dort die dauerndsten und höchsten Grade der Immunität noch auf anderen uns unbekannten Factoren als nur auf den bisher erforschten Vorgängen im Serum beruhen.

Ausser der künstlichen activen und passiven Immunität giebt es, wie schon erwähnt, bei manchen Infectionen noch die nicht specifische künstliche Resistenz nach R. Pfeiffer, zu deren experimenteller Ergründung wir uns nunmehr wenden wollen.

Injicirt man einem Meerschweinchen vorher normales Serum u. s. w., so wird dies Thier gegenüber einer nachfolgenden sonst tödtlichen Infection mit Typhus oder Cholera widerstandsfähig. Worauf beruht dies?

Tabelle X.

Meerschweinchen I	Meerschweinchen II	Meerschweinchen III
9. I. 1901. 3 ccm normales Kaninchenserum (1 Std. auf 58° erwärmt) intraperitoneal. 10. I. 1 Oese Typh. intraperitoneal. — Nach 1 Stunde noch bewegliche Typhusbacillen, die meisten unbeweglich und degenerirt. 11. I. munter, lebt.	9. I. 1901. 3 ccm normales Kaninchenserum (1 Std. auf 58° erwärmt) intraperitoneal. 10. I. 1 Oese Typh. + 3 ccm Anticomplement-Serum intraperitoneal. — Nach 1 Stunde massenhaft bewegliche Typhusbacillen. 11. I. † Typhusinfection.	10. I. 1901. 1 Oese Typh. intraperitoneal. — Abends †. Typhusinfection.

Wir ersehen aus dem vorstehenden Versuche, dass zweifellos die künstlich erhöhte Resistenz nach Injection verschiedener Substanzen, besonders normalen Serums, im engsten unmittelbaren Zusammenhange mit den Complementen bezw. Alexinen des Organismus steht und nicht etwa auf veränderte Resorptionsbedingungen in Folge der vorangehenden Injection zurückzuführen ist.

Das Nächstliegende wäre nun, weiterhin anzunehmen, dass durch die vorhergehende resistenzauslösende Injection die Complemente vermehrt worden sind, und sich hierdurch die Resistenz erkläre. In der That geben sowohl Nolf[1] wie Müller[2] an, dass sie bei Thieren nach der Injection von Serum, Pepton, Aleuronat, steriler Bouillon u. s. w. eine Vermehrung der hämolytischen Complemente im Serum der injicirten Thiere nachweisen konnten. Ich habe deshalb auch bei den Meerschweinchen, deren

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1900.
[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1901.



erhöhte Resistenz gegen Typhus nach Injection von normalem Serum wir soeben gesehen haben, quantitativ geprüft, ob sich nach einer solchen Injection von normalem Serum die Vermehrung eines Complementes im Serum nachweisen lasse. Ich konnte dies indessen bei der von mir gewählten Versuchsanordnung nicht constatiren.

Dieselbe bestand in Folgendem: Normales Kalbsserum löst Meerschweinchenblut. Nun zeigten Ehrlich und Morgenroth[1], dass das hämolytische Meerschweinchencomplement zu dem im Kalbsserum vorhandenen Immunkörper passt und demnach das inactivirte Kalbsserum durch Zusatz frischen Meerschweinchenserums reactivirt wird. Versetzt man also Meerschweinchenblutkörperchen mit inactivem Kalbsserum und bringt nun eine genügende Menge frischen Meerschweinchenserums als Complement hinzu, so löst sich nun durch Vermittelung des Kalbsimmunkörpers das Meerschweinchenblut in seinem eigenen Complement.

Ich habe die zur Reactivirung eines bestimmten Volumens inactiven Kalbsserums nöthige Menge frischen Serums von verschiedenen Meerschweinchen quantitativ geprüft, diesen Meerschweinchen alsdann normales Serum intraperitoneal eingespritzt, so dass sie typhusresistent wurden, hierauf wiederum ihr Serum quantitativ auf Complement durch Reactivirung des inactiven Kalbsserums bestimmt und bei dieser Versuchsanordnung nie eine Vermehrung des Complementes feststellen können.

In einer Vermehrung der Complemente kann also die künstlich erhöhte Resistenz ihre Ursache nicht haben, in der That bedarf es auch zur Aufhebung derselben nicht mehr Anticomplemente. Dagegen sprechen weiterhin noch andere, schon von Issaeff[2] erhobene Befunde.

So tritt die künstliche Resistenz zuverlässig gegenüber mehrfachen Multiplen der tödtlichen Dose nur dann ein, wenn Vorbehandlung und Infection an derselben Körperstelle, intraperitoneal, vorgenommen werden. Bei subcutaner Vorbehandlung und intraperitonealer Infection ist dieselbe nicht annähernd so ausgesprochen.

Weiterhin sind die Mengen der Substanzen, welche zur Auslösung der erhöhten Resistenz nöthig sind, sowie der Grad der ausgelösten Resistenz sehr verschieden, je nach der chemischen Natur dieser Substanz. — Je reicher an complicirten, den Eiweissstoffen nahestehenden Stickstoffverbindungen die betreffende Substanz ist, desto weniger ist zur Resistenzauslösung erforderlich, desto höher ist diese. Stets ist dieselbe eine sehr schnelle, schon nach 48 Stunden abnehmende und vorübergehende Erscheinung. — Issaeff, welcher alle diese Beobachtungen in ausserordentlich sorgfältig angelegten Experimenten gemacht hat, stellt folgende Stufen-

[1] A. a. O. [2] A. a. O.



leiter des Resistenzgrades in Folge Einspritzung verschiedener Substanzen auf. Es wirkt am schwächsten resistenzerhöhend bei Meerschweinchen die Injection von:

Physiologischer Kochsalzlösung;

es folgen dann, zunehmend an resistenzauslösender Kraft:

Urin,
Bouillon,
menschliches Blutserum,
Nucleinlösung,
Tuberculin.

Es wirken also, wie schon gesagt, diejenigen Substanzen am stärksten resistenzerhöhend, welche am reichsten an grossen complicirten, stickstoffhaltigen Molekülen sind, d. h. vor ihrer Resorption im Organismus verdaut werden müssen. — Da wir nun experimentell wissen, dass die Complemente verdauende Fermente sind, und die Resistenz, wie aus unseren Versuchen in Tabelle X hervorgeht, mit den Complementen zusammenhängt, so dürfte die Ursache der künstlichen Resistenz darin begründet sein, dass durch die vorhergehende Einspritzung nicht die Complemente vermehrt, sondern zwecks Verdauung der betreffenden Substanz an dem Orte der Injection concentrirt werden, und falls darunter Complemente sind, welche auf einen Infectionserreger passen, wie dies z. B. für Cholera und Typhus der Fall ist, nicht aber z. B. für Milzbrand, Tuberkelbacillus u. s. w. — so wird im ersteren Falle auch dieser mit verdaut, d. h. aufgelöst, im anderen Falle nicht. — Es erklärt uns dies alle experimentellen Befunde, die stärkere Wirksamkeit der hochmolecularen Verbindungen, das rasche Schwinden der künstlichen Resistenz, ihre Nichtspecificität, das regelmässige Auftreten derselben, sofern resistenzauslösende Injection und Infection an derselben Körperstelle vor sich gehen, und endlich den Mangel einer Complementvermehrung im Organismus. — Ganz besonders aber wird diese Erklärung der Resistenzerhöhung durch Experimente gestützt, die ich angestellt habe. — Während nämlich das Serum einer fremden Thierspecies sehr stark resistenzerhöhend wirkt, thut dies das Serum der eigenen Species nicht annähernd in demselben Grade, indem hier die meisten im Serum vorhandenen Substanzen als mit denen des eigenen Organismus identisch ohne vorhergehende Umwandlung assimilirt werden können. —

Demnach ist die künstlich erhöhte Resistenz nichts anderes als ein activ erhöhtes Zuströmen von Complementen zwecks Verdauung nach einer Stelle des Organismus, sie ist ein vollständiges Analogon zum passiv erhöhten Complementgehalt eines Körpertheiles durch Umschnüren und Verhindern des



venösen Abflusses, von dem wir ebenfalls experimentell wissen, dass er die Resistenz dieses Körpertheiles erhöht.

Ich habe diese Vorgänge der künstlich erhöhten Resistenz sowohl aus praktischen Rücksichten, wie auch besonders deshalb etwas ausführlicher erörtert, weil sie geeignet sind, uns eine erweiterte Anschauung über die biologische Rolle der Complemente zu geben. Ich nähere mich dabei vollständig den von Ehrlich in seiner jüngsten Monographie[1] aus einander gesetzten Ansichten. Ihrem ganzen verdauenden Charakter, ihrer Vielfältigkeit, ihrer Verbreitung und raschen Vertheilungsfähigkeit im Organismus nach müssen die Complemente eine allgemeinere biologische Aufgabe haben, als nur die Vernichtung einiger Arten Bakterien und fremder Blutkörperchen. Diese dürfen wir nach dem oben Erörterten wohl darin suchen, dass sie die Verdauungsfactoren des intermediären Stoffwechsels sind und physiologisch eine ebenso wichtige Rolle im Haushalte des Organismus spielen, wie die seit Langem physiologisch erforschten peptischen Fermente der grossen Verdauungsdrüsen, eine Anschauung, welche auch Buchner[2] bereits zum Ausdrucke brachte.

Zum Schlusse dieser Arbeit will ich noch die experimentellen Belege für eine Behauptung nachholen, die ich im Laufe derselben oftmals aufgestellt habe, ohne, des Zusammenhanges wegen, sie früher geben zu können.

Dieselbe betrifft den Nachweis, dass es in einem Serum nicht ein, sondern verschiedene Complemente giebt.[3] Ehrlich und Morgenroth[4] haben diesen Nachweis bereits in der Art gebracht, indem sie zeigten, dass man durch Filtriren normalen Ziegenserums mittels Pukallfilter dem Serum das Complement für Kaninchenblut fast völlig entziehen kann, während das auf Meerschweinchenblut wirkende Complement das Filter passirt.

Ich bin der Lösung dieser Frage in anderer Weise nahegetreten, da uns bei unseren Versuchen vornehmlich die Frage interessirt, ob das zu einem baktericiden und hämolytischen Immunkörper passende Complement einheitlich oder multipel ist. Bordet[5] beantwortet diese Frage auf Grund seiner Experimente im ersteren Sinne.

---

[1] Nothnagel's *Specielle Pathologie und Therapie.* Die Anämieen. Schlussheft 1901.

[2] *Münchener med. Wochenschrift.* 1899.

[3] Ich verweise bei dieser Gelegenheit auf ein früheres Experiment von mir (Experimentelle Beiträge zur Serumtherapie. *Deutsche medicinische Wochenschrift.* 1897. Nr. 17), aus dem die Verschiedenheit der Complemente sich ebenfalls ergiebt.

[4] A. a. O. [5] A. a. O.



Meine Versuchsanordnung war folgende:

Normales Ziegenserum löst Meerschweinchenblut. Inactivirt man Ziegenserum, setzt es zu Meerschweinchenblut zu und giebt normales Meerschweinchenserum als Complement bei, so wird hierdurch das inactive Ziegenserum nicht reactivirt.

Tabelle XI.

Meerschweinchen I	Meerschweinchen II
12. IX. 1900. 5 ccm 5 procent. Meerschweinchenblut + 0·5 ccm normales Ziegenserum. Bei 37° fast sofortige complete Lösung.	12. IX. 1900. 5 ccm 5 procent. Meerschweinchenblut + 1 ccm inact. Ziegenserum + 1 ccm frisches Meerschweinchenserum. Bei 37° nach 2 Std. kaum Spur von Lösung.

Es besitzt also das Meerschweinchenserum kein für den hämolytischen Immunkörper des Ziegenserums passendes Complement.

Immunisirt man indessen diese nämliche Ziege, von der das Serum stammte, gegen Cholera, inactivirt sodann dies baktericide Immunserum dieser Ziege und injicirt es Meerschweinchen oder versetzt es in vitro mit frischem Meerschweinchenserum, so wird das inactivirte baktericide Ziegenserum nun wieder reactivirt, und es tritt rasche Auflösung der Bakterien ein. Das Meerschweinchenserum besitzt also im Gegensatze zum ersten Versuch ein passendes Complement für den baktericiden Immunkörper des Ziegenserums. Aus diesem Versuch geht die Multiplicität der Complemente, d. h. die Thatsache im Ehrlich'schen Sinne sicher hervor, dass ein Complement nicht auf alle Immunkörper passt, sondern dass es verschiedene Complemente giebt.

Diese Thatsache, dass es verschiedene Complemente giebt, die bald zu dem von einer Thierart stammenden Immunkörper passen, zu dem von einer anderen nicht u. s. f., ist auch praktisch grundlegend wichtig. — Es gewinnt dadurch die Art des Thieres, welches wir zwecks Gewinnung von baktericidem Schutz- und Heilserum für den Menschen immunisiren, eine grosse Bedeutung. — Denn wenn wir auch nach unseren experimentellen Ergebnissen annehmen müssen, dass die meisten Complemente den verschiedenen Säugethieren gemeinschaftlich sind, so giebt es doch unter diesen, wie wir wissen, und nachweisen können, wieder subtilste Unterschiede, die sie als nicht völlig identisch erscheinen lassen.

Daher ist die Annahme, welche wir heute noch fast allgemein machen, dass ein Immunserum von einer Thierart A, dessen Titre wir durch die

Prüfung auf Schutzwerth bei einer Thierart B feststellen, nun auch denselben Schutzwerth für ein Thier C, z. B. den Menschen, habe, nicht ohne Weiteres gerechtfertigt. — Das Verhalten zwischen Immunkörper von Thier A und Complement von Thier B kann ein sehr verschiedenes sein von dem zwischen A und C. — In der That haben wir für das Bestehen dieser Verhältnisse bereits genügende experimentelle Beweise. So schützt das von Schafen stammende Milzbrand-Immunserum nach Sobernheim Kaninchen, findet also dort passendes Complement, nicht aber Mäuse und Meerschweinchen, indem hier das entsprechende Complement nicht vorhanden ist. Ganz analoge Verhältnisse konnte die deutsche Pestexpedition für die Pestimmunität bei verschiedenen Affenrassen nachweisen.

Angesichts der eminent praktischen vitalen Wichtigkeit der Complemente, welche, wie ich glaube, ich hier durch die Experimente in vivo genügend gezeigt habe, und deren Studium mich schon seit einer langen Zeit beschäftigt, habe ich auch Versuche darüber angestellt, sie im lebenden Organismus zu vermehren. Ich bin dabei in der Art vorgegangen, dass ich Thiere längere Zeit mit ihrem Anticomplement vorbehandelte, in der Erwartung, hierdurch nach den in der Immunität geltenden Gesetzen eine Steigerung der Production der entsprechenden Complemente und damit eine erhöhte Resistenz oder bei solchen Thieren bessere Heilresultate mit Immunserum in Folge erhöhten Complementgehaltes zu erlangen.

Ich habe Meerschweinchen Wochen lang mit Anticomplement vorbehandelt, aber alsdann weder eine constante deutliche Vermehrung ihrer Complemente, noch eine erhöhte Resistenz oder einen besseren Heilungs-Coëfficienten mit Regelmässigkeit und Sicherheit constatiren können. Ich will indessen diese negativen Versuche der Kürze halber nicht mit ihren Protocollen hier anführen.

III. Schlussfolgerungen.

Fassen wir die experimentellen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zusammen, so sind dies folgende:

1. Die Complemente sind intravital vorhandene Substanzen.

2. Den Complementen kommt eine ausschlaggebende ursächliche Rolle bei gewissen Arten der natürlichen Widerstandsfähigkeit gegenüber Infectionen zu.

3. Die Complemente sind indessen nicht die einzige Ursache dieser natürlichen Resistenz.

4. Für gewisse Arten von angeborener hoher Immunität konnte durch die bisherigen Methoden keine ursächliche Betheiligung der Complemente nachgewiesen werden.

5. Bei der Typhusinfection der Meerschweinchen haben die Complemente einen directen Einfluss auf den acuten, subacuten oder chronischen Verlauf derselben.

6. Die Wirkung des specifisch baktericiden Immunserums beruht auch im lebenden Organismus auf der combinirten Wirkung zweier Substanzen, des Immunkörpers (R. Pfeiffer und Ehrlich), d. h. Substance sensibilatrice (Bordet) und des Complementes (Ehrlich), d. h. Alexins (Bordet, Buchner).

7. Grosse Dosen Immunkörper erhöhen die Affinität zwischen diesem und seinem entsprechenden Complemente.

8. Bei der Wirkung der specifisch antitoxischen Sera im lebenden Organismus spielen dagegen die Complemente keine Rolle.

9. Die active Typhusimmunität des Meerschweinchens beruht auf dem Circuliren des specifisch baktericiden Immunserums im Organismus des activimmunen Thieres, ist also eine hämatogene und keine histogene Immunität.

10. Die künstliche Resistenz gegenüber gewissen Infectionen nach Injection verschiedener nicht specifischer Substanzen hat ihren Grund in dem activen Zuströmen von Complementen nach der Stelle des Organismus, woselbst die resistenzauslösende Injection vorgenommen wurde.

11. Eine länger dauernde Vermehrung der Complemente im Organismus auf künstlichem Wege ist uns nicht gelungen.

12. Die Complemente sind biologisch nicht nur bakterio- und cytolytische Substanzen, sondern allgemein eiweissverdauende Fermente.

13. Die Complemente des Serums sind multipel, doch sind gewisse Arten den meisten bisher untersuchten Säugethieren gemeinsam.

14. Eine sichere, indessen nicht die einzige Quelle der Complemente sind die Leukocyten.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]

Ueber den Werth und die Bedeutung der Arloing-Courmont'schen Serumreaction, besonders in Bezug auf die frühzeitige Erkennung der Rindertuberculose.

Von

Max Beck und **Lydia Rabinowitsch.**

Im Jahre 1898 hatte Arloing zuerst auf dem Congress zu Montpellier eine Methode mitgetheilt, um vermittelst des Blutes von Tuberculösen flüssige, gleichmässig getrübte Tuberculoseculturen zur Agglutination zu bringen. Es wurde dann in einer Reihe von grösseren und kleineren Abhandlungen, deren Zahl im Verlauf von nur 3 Jahren auf 22 anstieg, zum Theil von Arloing[1] in Gemeinschaft mit P. Courmont[5], zum

Eingegangen am 3. März.

1. S. Arloing, Agglutination du bacille de la tuberculose vraie. *Congrès de médecine intern.* 12—17 avril 1898, Montpellier.

2. Derselbe, Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes du bacille de la tuberculose humaine en milieu liquide et „sur une variété mobile de ce bacille?“ *Comptes rendus de l'académie des sciences.* 9 mai 1898. T. CXXVI. p. 1319—1321.

3. Derselbe, Agglutination du bacille de la tuberculose vraie. *Ebenda.* 16 mai 1898. T. CXXVI. p. 1398—1401.

4. Derselbe, Apparition dans le sérum sanguin, sous l'influence de produits chimiques, d'une matière capable d'agglutiner le bacille de la tuberculose vraie. *Ebenda.* 31 mai 1898. T. CXXVI. p. 1550—1553.

5. Paul Courmont, Action des épanchements des séreuses tuberculeux ou non, sur les cultures de bacilles de Koch en milieux liquides. *Comptes rendus de la société de biologie* 28 mai 1898. p. 605—608.

6. Derselbe, Séro-diagnostic des épanchements tuberculeux. *Presse médicale.* 11 juin 1898.

7. Derselbe, Séro-diagnostic des épanchements tuberculeux. *Congrès pour l'étude de la tuberculose.* Paris, 27 juillet—2 août 1898. p. 578.



Theil von jedem der Autoren allein darauf hingewiesen, dass durch diese Agglutination eine frühzeitige Erkennung der Tuberculose möglich sei. Die Reaction besteht bekanntlich darin, dass das zu untersuchende Serum in einem bestimmten Verhältniss einer Tuberculosecultur zugefügt wird. Letztere besitzt die Eigenschaft, in 6procent. Glycerinbouillon so zu wachsen, dass die Flüssigkeit gleichmässig getrübt wird, also ein homogenes Wachsthum entsteht, wobei die Tuberkelbacillen nicht wie gewöhn-

---

8. P. Courmont, L'agglutination du bacille de Koch par les sérosités tubercul. *Comptes rendus de la société de biologie.* 24 novembre 1900. p. 1000—1002.

9. Derselbe, L'agglutination du bacille de Koch par les épanchements tuberculeux (séro-diagnostic). *Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique.* 1900. p. 697.

10. S. Arloing et Paul Courmont, De l'obtention des cultures du bacille de Koch les plus propices à l'étude du phenomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux. *Congrès pour l'étude de la tuberculose.* Paris 27 juillet — 2 août 1898. p. 583.

11. Dieselben, Étude sur la recherche et la valeur clinique de l'agglutination du bacille de Koch par le sérum sanguin de l'homme. *Ebenda.* p. 586.

12. Dieselben, De l'obtention des cultures du bacille de Koch les plus propices à l'étude du phenomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux. *Comptes rendus de l'académie des sciences.* 8 août 1898. T. CXXVII. p. 312—315.

13. Dieselben, Sur la recherche et la valeur clinique de l'agglutination du bacille de Koch par le sérum sanguin de l'homme. *Ebenda.* 19 septembre 1898. T. CXXVII. p. 425—428.

14. Dieselben, Recherche et valeur clinique de l'agglutination du bacille de Koch (séro-diagnostic de la tuberculose). *Bericht über den Berliner Tuberculose-Congres.* 1899. S. 229.

15. Dieselben, De l'agglutination du bacille de Koch; application au séro-diagnostic de la tuberculose. *Zeitschrift für Tuberculose und Heilstättenwesen.* 1900. Bd. I. Hft. 1 u. 2.

16. Dieselben, Sur la valeur de la séro-réaction pour le diagnostic précoce de la tuberculose. *Presse médicale.* 1 sept. 1900. Nr. 73.

17. Dieselben, Ueber den Werth der Serumreaction für die frühzeitige Diagnose der Tuberculose. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. S. 766.

18. Dieselben, Le séro-diagnostic de la tuberculose. *Gaz. des hôpitaux.* 1900. p. 1467—1474. décembre.

19. Dieselben, Étude de l'influence chez le chien d'une inoculation de bacilles de Koch très virulents sur le pouvoir agglutinant déterminé par une première inoculation de bacilles atténués. *Comptes rendus de la société de biologie.* 1 décembre 1900. p. 1025—1026.

20. Dieselben, Des causes qui modifient le développement du pouvoir agglutinant dans le sang des sujets rendus expérimentalement tuberculeux. *Journal de physiol. et de pathol. générale.* 1900. p. 82—94.

21. S. Arloing, Du diagnostic de la tuberculose par la séro-agglutination. *Congrès intern. de Paris.* août 1900.

22. Derselbe, Séro-diagnostic de la tuberculose sur les animaux de l'espèce bovine. *Journal de médecine vétérinaire et de zootechnie.* 1900. p. 449.



lich in Häufchen liegen, sondern einzeln gleichmässig in der Bouillon vertheilt sind. Eine solche Trübung der Glycerinbouillon entsteht schon einige Tage nach der Impfung mit einer auf Kartoffel umgezüchteten Tuberculosecultur, jedoch ist es nothwendig, dass dieselbe bei 38° im Brütschrank gehalten und täglich mehrmals durch Umschütteln aufgerührt wird. Auch uns ist es gelungen, wie wir in unserer früheren Abhandlung[1] schon mitgetheilt haben, aus dem Sputum eines Tuberculosekranken eine Cultur herzustellen, welche die Bouillon mehr oder weniger gleichmässig trübte. Während aber unsere homogene Tuberculosecultur auf den gewöhnlichen Nährböden und im Thierkörper ihre früheren Eigenschaften wieder annahm, sahen wir die von Courmont selbst stammende Cultur sowohl auf den festen Nährböden, wie auch im Thierkörper sich wesentlich anders verhalten, als wir dies bei sonstigen Jahre hindurch auf künstlichen Nährböden fortgezüchteten Tuberculoseculturen zu sehen gewohnt sind. Auf Glycerinagar und auf der Kartoffel fällt sofort bei der Arloing-Courmont'schen Cultur der schmierige grau-weissliche Belag auf, gegenüber dem höckerigen Wachsthum der sonstigen Tuberculoseculturen. Auch im Thierkörper, besonders nach intraperitonealer Injection beim Meerschweinchen, sind die Veränderungen so ganz andere, als wir sie sonst nach Verimpfung von Tuberkelbacillen in die Bauchhöhle wahrnehmen. Wir vermissen nach Injection der Arloing-Courmont'schen Cultur, vor Allem bei den inficirten Meerschweinchen, die charakteristischen Veränderungen in Leber, Milz und Lungen. Es machte die Impfung, wenn überhaupt Veränderungen eintraten, was jedoch lange nicht immer der Fall ist, mehr den Eindruck einer localen Tuberculose ohne Tendenz zur Allgemeininfection: nach subcutaner Impfung fanden wir nur einen Käseherd an der Impfstelle, nicht aber die benachbarten Drüsen tuberculös, und bei intraperitonealer Injection mitunter Knötchen in dem Netze. Die von den betreffenden Stellen gezüchteten Bacillen zeigten wieder die Eigenschaften der injicirten Cultur. Die charakteristische Eigenthümlichkeit der Tuberkelbacillen, bei subcutaner Verimpfung auf nicht zu hochgradig tuberculöse Meerschweinchen Nekrose zu erzeugen, geht dem Courmont'schen Bacillus völlig ab. Bei der Arloing-Courmont'schen Cultur auf den festen Nährböden fällt stets der eigenthümliche schmutzige Belag auf, der auch nach mehrmonatlicher Züchtung auf Glycerinagar niemals die charakteristische höckerige Beschaffenheit des echten Tuberkelbacillus annimmt. Impfung auf Hühner war ohne Erfolg. Jedoch müssen wir gleich hier bemerken, dass unsere Thierversuche nach dieser Richtung noch nicht vollständig abgeschlossen sind. Wir können vorläufig nur annehmen, dass, falls es

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 25.



sich bei der Arloing-Courmont'schen Cultur wirklich um eine echte Tuberculosecultur handelt, dieselbe durch fortgesetzte Züchtung auf Kartoffel ihre ursprünglichen Eigenschaften völlig eingebüsst hat, wie wir ja auch sehen, dass der Tuberkelbacillus durch das Wachsthum auf Kartoffelbrühe schliesslich seine Giftwirkung nahezu vollständig verliert.

Die auf 6procentiger Glycerinbouillon eine gleichmässige Trübung zeigenden Arloing-Courmont'schen Tuberculoseculturen sollen nach diesen Autoren nun die Eigenschaft besitzen, durch das Serum tuberculöser Menschen und Thiere agglutinirt zu werden. Die unterste Grenze der Agglutination soll nach Arloing-Courmont 1:5 betragen, jedoch kann bei tuberculösen, besonders künstlich inficirten Thieren das Verhältniss sich bis 1:500 und 600 steigern.

Weiter geben die französischen Autoren an[1], dass neben dem Blute Tuberculöser auch dem serösen Exsudat bei tuberculöser Pleuritis meistens die Eigenschaft der Agglutination zukommt. Auch soll sich aus dem positiven Ergebniss der Serumreaction ein Schluss auf den prognostisch gutartigen Charakter der Pleuritis ziehen lassen.

Von Arloing und Courmont wird nun in ihren Schriften der Werth und die Bedeutung dieser Agglutination weiter ausgeführt und besonders die diagnostischen Eigenschaften der Serumreaction in den allerersten Stadien der Tuberculose hervorgehoben.

Zu den gleichen Resultaten, wie ihre Landsleute, kamen auch Rothamel[2], Buard[3] und Mongour.[4] Von deutschen Forschern konnte bis jetzt nur Bendix[5] die Untersuchungen von Arloing und Courmont bestätigen. Dagegen war es uns nicht möglich, in eingehenden Untersuchungen die gleichen Resultate wie Arloing und Courmont zu erlangen, im Gegentheil, wir sahen uns genöthigt, uns dahin auszusprechen, dass die Arloing-Courmont'sche Reaction keine specifische Bedeutung für das Blutserum von Tuberculösen besitzt, sondern auch bei notorisch nicht tuberculösen Menschen und Thieren beobachtet wird, andererseits aber sicher in vielen Fällen bei beginnender Tuberculose im Stiche lässt.

Wir hatten im Ganzen das Blutserum von 73 Personen, und zwar von 41 Patienten, geprüft, welche in verschiedenen Stadien der Lungentuberculose sich befanden oder andere Erscheinungen der Tuberculose

[1] *Archives de med. expérimentale et d'anatomie pathologique.* 1900. p. 697.

[2] Agglutination du bacille de la tuberculose, principalement chez les tuberculeux cachectiques. *Thèse de Bordeaux.* 1899.

[3] Séro-réaction tuberculeux. Cultures du bacille agglutinable. Étude speciale chez l'enfant. *Ebenda.* 1900.

[4] *Société de biologie.* 1899.

[5] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 14.



darboten, sowie von 29 Patienten, die anderer Erkrankungen halber das Krankenhaus aufgesucht hatten, sowie ausserdem von 3 gesunden Personen. Trotzdem wir ganz nach den Vorschriften von Arloing und Courmont die Culturen herstellten, und sogar einige von Arloing-Courmont selbst stammende Culturen zu unseren Untersuchungen benutzten, auch mit aller Sorgfalt die Mischung des Serums mit der Cultur vornahmen, so bekamen wir doch unregelmässige Resultate. Wir sahen nämlich neben einer Anzahl von Tuberculösen auch das Blutserum solcher Patienten agglutinirende Eigenschaften entfalten, die keine Tuberculose hatten, sowie auch bei völlig Gesunden. Andererseits aber versagte die Reaction in einer Anzahl von Fällen mit beginnender Tuberculose, wo dieselbe nach Arloing und Courmont ausschlaggebend sein sollte. Denn dadurch, dass wir bei einer Anzahl von Patienten, die vorher mit Tuberculin diagnostisch injicirt worden waren, die Serumreaction anstellten, glaubten wir unsere Untersuchungen insofern werthvoll zu gestalten, als durch den Vergleich der Serumreaction mit der Tuberculinprüfung der praktische Werth der ersteren sich am besten bemessen lassen konnte. In einer weiter unten ausführlicher von uns noch zu besprechenden Arbeit von Arloing und Courmont[1] wird uns dies allerdings sehr zum Vorwurf gemacht. Hier verlangen die Verfasser, „dass man nicht ohne Grund abtrennt die Fälle, in denen die Serumdiagnose positiv, die Tuberculinreaction aber negativ ist, sondern die Frage bedarf noch der Entscheidung, ob die Serumprobe oder die Tuberculinprobe Recht hat". In der Thierheilkunde, wo die Tuberculinprobe durch die eventuell daran sich anschliessende Schlachtung der Thiere controlirt werden kann, wird der Procentsatz der Fehlresultate, wo also die Tuberculinprobe mit dem Obductionsbefund nicht übereinstimmt, auf 7 bis höchstens 9 Procent gerechnet. Die Thierärzte wissen aber, dass bei genauer makroskopischer und mikroskopischer Untersuchung dieses procentuelle Verhältniss auf 2 Procent zusammenschrumpft. Wir glauben sicher annehmen zu dürfen, dass das Tuberculin, vor Allem gestützt auf die zahlreichen Versuche an Rindern, seine Feuerprobe bestanden hat, und mit Recht bis jetzt als das sicherste Mittel zur Erkennung frühzeitiger Tuberculose anerkannt werden muss. Wie es sich in dieser Hinsicht mit der Arloing-Courmont'schen Serumreaction verhält, das werden die Zeit und die Untersuchungen unbefangener Beobachter erst noch zu Tage fördern. Wir glauben aber schon jetzt sagen zu können, dass sie den Vergleich mit dem Tuberculin wohl in keinem Fall bestehen wird.

In unserer früheren Arbeit haben wir dann weiter noch angegeben,

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 48.



dass wir auch das Serum verschiedener Thierarten: Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen u. s. w. nach der Arloing-Courmont'schen Methode geprüft hatten, und zwar sowohl das Serum gesunder, als auch dasjenige künstlich mit Tuberculose, auch mit der Courmont'schen Cultur inficirter Thiere. Die Resultate waren aber auch hier keineswegs einheitliche, so dass wir uns am Schlusse dahin aussprechen mussten, dass die Serumdiagnose für die Erkennung der Tuberculose, speciell für die Frühdiagnose derselben, nicht zu verwerthen sei.

In gleichem Sinne sprach sich auch C. Fränkel[1] aus, der kurz nach dem Erscheinen unserer Abhandlung auf Grund seiner Untersuchungen erklärt: „Die Ergebnisse sind keineswegs geeignet, den Werth des neuen Verfahrens in ein besonders günstiges Licht zu setzen", da die „Unzuverlässigkeit der Reaction" sich sowohl bei den echten Tuberculosen zeigte, welche sich vorzugsweise im Frühstadium der Krankheit befanden, und bei denen die Agglutination nur einmal auftrat, sowie bei den vermutheten Tuberculosefällen, in denen die Reaction gänzlich versagte, während sie in 2 Fällen von Typhus abdominalis positiv ausfiel.

In gleicher Weise sagt Lubowsky[2] in seiner Arbeit über die Agglutination der Diphtheriebacillen aus dem Ehrlich'schen Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M., dass diesbezüglich vorgenommene Untersuchungen „die Courmont'sche Methode als eine praktisch brauchbare nicht haben erkennen lassen". Ebenso spricht sich Max Neisser[3] aus dem gleichen Institut dahin aus, dass die neuerdings von französischer Seite so warm empfohlene Serumdiagnostik der Tuberculose zur Zeit noch keine klinisch brauchbare Methode sei, und dass die im Ehrlich'schen Institut angestellten Nachprüfungen mit unseren, sowie C. Fränkel's ungünstigen Resultaten übereinstimmen.

Auch Dieudonné[4] muss nach seinen Ergebnissen „die Serumreaction in Uebereinstimmung mit den Befunden von Beck und Rabinowitsch, sowie von C. Fränkel für die Frühdiagnose der Tuberculose als nicht verwerthbar erklären".

Endlich theilt Horcicka[5] über die Serumdiagnose von Arloing-Courmont mit, dass er nicht umhin könne, „sich dahin auszusprechen, dass das genannte Verfahren unsichere Resultate liefere, und dass er sich nicht trauen würde, beim negativen Ausfall der Serumreaction das Vorhandensein der Tuberculose auszuschliessen".

[1] *Hygienische Rundschau.* 1900. Nr. 13. S. 630.
[2] *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXV. S. 93.
[3] *Wiener med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 48/49.
[4] *Militärärztl. Zeitschrift.* 1900. S. 528.
[5] *Hygienische Rundschau.* 1900. Nr. 22.



Es stehen sich also die Urtheile verschiedener Forscher gegenüber. Der Vorwurf, den man den deutschen Forschern machen könnte, die sich widersprechenden Resultate seien darauf zurückzuführen, dass sie die Technik nicht genügend beherrschten, kann man wohl ohne Weiteres zurückweisen. Bei der weittragenden Bedeutung der Serumreaction muss man wohl mit Recht annehmen, dass die Vorschriften, die die Entdecker der Methode gegeben haben, gewissenhaft eingehalten worden sind.

Allerdings kann auch hier endgültig nur der Thierversuch entscheidend sein, indem in gleicher Weise wie beim Tuberculin die Resultate der Blutuntersuchung mit dem Befund der geschlachteten Thiere verglichen werden. Von diesem Gedanken ausgehend, haben auch Arloing und Courmont[1] „gelegentlich eines Concurses von 3 Schlachthausinspectoren 30 junge Kälber und 50 ältere, die aus gesunder Rasse stammten und von verschiedenem Alter waren, und 70 ältere Thiere, welche mehr oder weniger tuberculöse Veränderungen darboten, der Serumreaction unterworfen. In diesen Fällen ist die Serumagglutination immer durch die Autopsie geprüft worden, die von den Inspectoren gemacht wurde. Die makroskopische Agglutination war negativ bei den jungen Kälbern, schwankte um das Verhältniss von 1:5 herum, war aber meist niedriger bei den gesunden erwachsenen Thieren, während sie bei alten tuberculösen Thieren, mit einer einzigen Ausnahme stärker war wie 1:10. Von diesen letzteren agglutinirten 8 Thiere deutlich bei 1:10, 30 sehr deutlich bei 1:10. 23 deutlich bei 1:15 und 8 deutlich bei 1:20.

Von 120 Beobachtungen hat also nur einmal die Serumdiagnose versagt, indem das betreffende Thier nur bei 1:5 agglutinirte, sich also wie ein gesundes Thier verhielt."

In unserer früheren Abhandlung hatten wir schon darauf hingewiesen, dass wir das Blutserum von Kälbern untersucht haben, welche mit menschlicher Tuberculose inficirt gewesen waren. Wir sahen jedoch bei diesen Thieren keinen Unterschied gegenüber den gesunden Controlthieren, auf beiden Seiten betrug die Agglutination 1:5. Durch das freundliche Entgegenkommen des Hrn. Dr. Reissmann, Director der Fleischbeschau am hiesigen Centralviehhof, war es uns möglich, das Blutserum einer Reihe von Rindern auf die Arloing-Courmont'sche Reaction zu prüfen, welche auf dem Berliner Centralviehhof geschlachtet worden waren. Wir sagen Hrn. Dr. Reissmann an dieser Stelle für die liebenswürdige Ueberlassung des Materials unseren besten Dank.

Das Blut der Thiere wurde beim Schlachten entnommen, und nachdem sich genügend Serum abgesetzt hatte, mit einer gut gewachsenen

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 48.



12- bis 14tägigen homogenen Arloing-Courmont'schen Cultur gemischt, zunächst im Verhältniss von 1 : 5, 1 : 10 und 1 : 20. Nach 15 bis 20 Stunden wurden die Serumröhrchen untersucht und bei positivem Ausfall der Reaction eventuell noch weiter im Verhältniss von 1 : 30 u. s. w. nach oben hin geprüft. Die meisten Serumproben wurden von jedem von uns getrennt untersucht und später die Resultate mit einander verglichen, dieselben stimmten regelmässig überein, so dass also eine mangelhafte Technik uns keineswegs vorgeworfen werden kann. Wir möchten an dieser Stelle bemerken, dass die bei unseren jetzigen Versuchen verwandten Culturen von Arloing-Courmont stammten. Auch hatte Hr. Geheimrath Koch die grosse Liebenswürdigkeit, unsere Untersuchungen zu controliren, und sind wir unserem hochverehrten Chef für das grosse Interesse, das er unseren Untersuchungen entgegen brachte, und für seine freundlichen Rathschläge zu grossem Dank verpflichtet.

Im Folgenden geben wir zunächst die Protocolle der geschlachteten Thiere, die uns Herr Dr. Reissmann in freundlichster Weise zur Verfügung stellte, wieder. Im Anschluss daran bringen wir dann in tabellarischer Uebersicht die Resultate der Serumprüfung, und zwar giebt die Tabelle I die Prüfungsergebnisse der einzelnen Fälle in der Reihenfolge wieder, nach welcher die Rinder in den Protocollen aufgezählt sind. Tabelle II soll uns in übersichtlicher Weise die Agglutinationsverhältnisse der einzelnen Thiere nach ihren Krankheitserscheinungen geordnet wiedergeben.

Sectionsprotocolle.

Nr. 1 und 2. Gesund.

Nr. 3. Auf den serösen Ueberzügen der Lungen und der Brustwandungen befinden sich auf der linken Seite schwache, auf der rechten Seite mässig ausgebreitete tuberculöse Auflagerungen, theils in Form gallertigen und feinfaserigen Belages, theils in Form aufsitzender oder gestielter Knötchen bis zur Grösse einer Erbse. Im Lungengewebe bronchopneumonische Tuberkelherde von Haselnuss- bis Faustgrösse; meist verkäst. In den Bronchial- und den hinteren Mittelfelldrüsen hanfkorn- bis bohnengrosse, zum Theil frische, meist verkäste und schwach verkalkte Tuberkelherde. Drüsen nur wenig vergrössert.

Nr. 4. Auf den serösen Ueberzügen der Lungen und der Brustwand, namentlich auf ihren vorderen, unteren Theilen, umfangreiche, vorwiegend bereits verkalkte tuberculöse Wucherungen; daneben ein verhältnissmässig geringer Belag jüngeren Alters (frisch und in Verkäsung begriffen). Lunge hochgradig mit trocken käsigen bronchopneumonischen Herden durchsetzt; bis faustgross; die grösseren Herde zeigen im Innern starke Zerfallsmassen von weich-mörtelartiger Beschaffenheit. Eben solche Herde, bis zur Grösse einer Haselnuss, befinden sich in den Bronchial-, den hinteren Mittelfell- und den retropharyngealen Lymphdrüsen.



Nr. 5. Bronchopneumonische Herde (bis Kinderfaustgrösse) in mässiger Zahl. In den wenig vergrösserten Bronchial- und hinteren Mittelfelldrüsen spärliche, hanfkorn- bis erbsengrosse Tuberkelherde.

Nr. 6 und 7. Gesund.

Nr. 8. In den Bronchialdrüsen kleine, bis erbsengrosse, meist verkalkte Herde; geringe Schwellung.

Nr. 9. Im Lungengewebe neben älteren, grösseren zahlreiche miliare, graue, zum Theil central in Verkäsung begriffene Tuberkel. Beide Pleurablätter mit frischen, verkästen und verkalkten Auflagerungen bedeckt. Retropharyngeale Lymphdrüsen vergrössert; in der linken ein kirschkerngrosser Herd mit eiterig-käsigem Centrum. Bronchial- und Mediastinaldrüsen erheblich vergrössert, mit käsigen und kalkhaltigen Herden durchsetzt. Fleisch als ungeeignet beanstandet.

Nr. 10. Gesund.

Nr. 11. Im Lungengewebe zahlreiche bronchopneumonische Herde, zum Theil faustgross. Auf beiden Pleurablättern starker tuberculöser Belag, stellenweise über 10 ^{cm} stark. Auf beiden Peritoneumblättern ein ausgebreiteter, unterbrochener, dünner Belag, feinzottig oder gallertartig, untermischt mit zum Theil verkästen Tuberkeln. Bronchial-, Mediastinal- und Mesenterialdrüsen stark vergrössert durch Einlagerung zahlreicher frischer, verkäster und verkalkter Tuberkel. In der Uterusschleimhaut dicht gelagerte, bis hanfkorngrosse, meist verkäste Tuberkel. Ein Renculus der rechten Niere tuberculös entartet, im Centrum desselben ein kirschgrosser Tuberkelherd; ausserdem in derselben Niere mehrere kleinere Herde. Fleisch als ungeeignet zur menschlichen Nahrung beanstandet.

Nr. 12. Frische, rothe, zottige Anhängsel, vermuthlich tuberculöser Natur, auf der Lungenserosa.

Nr. 13. In einer der retropharyngealen Lymphdrüsen ein kirschgrosser, verkäster Herd; auf beiden Pleurablättern ein schwacher, feinzottiger, frischer Belag.

Nr. 14. Bronchial- und Mediastinaldrüsen wenig vergrössert, mit hart verkalkten Herden durchsetzt.

Nr. 15. Auf beiden Pleurablättern ein spärlicher feinzottiger Belag, mit wenigen älteren Tuberkeln untermischt. In den mässig vergrösserten Bronchial- und Mittelfelldrüsen neben frischen viele verkäste und mehr oder weniger verkalkte Herdchen.

Nr. 16. Keine tuberculösen Veränderungen. Lunge und Leber mit Echinokokken durchsetzt.

Nr. 17. Im Lungengewebe bis haselnussgrosse, meist verkäste und verkalkte Herde in mässiger Zahl. In den retropharyngealen, den Bronchial- und Mediastinaldrüsen, die sämmtlich mässig vergrössert sind, neben frischen vorwiegend verkäste und verkalkte Herde.

Nr. 18. Keine tuberculösen Veränderungen. Die Leber enthält einen kindskopfgrossen, abgekapselten Abscess mit übelriechendem Eiter.

Nr. 19. Auf beiden Pleurablättern spärlicher, feinzottiger Belag. Im Lungengewebe bis hühnereigrosse, weiche und trocken-käsige Herde. In den ziemlich stark vergrösserten Bronchial- und Mediastinaldrüsen neben frischen zahlreiche verkäste und verkalkte Tuberkelherde.



Nr. 20. Auf beiden Pleurablättern spärlicher, feinzottiger Belag, vermuthlich tuberculöser Natur. Im Lungen- und Leberparenchym viele Echinokokken. In der Leber ausserdem ein faustgrosser, abgekapselter Abscess mit übelriechendem Eiter.

Nr. 21. Gesund.

Nr. 22. Im Lungengewebe bis haselnussgrosse, meist verkäste und verkalkte Herde in mässiger Zahl. Ebensolche Herde in den Bronchial- und Mittelfelldrüsen. Auf beiden Pleurablättern frischer Belag.

Nr. 23. Auf dem serösen Ueberzug der Lungen schwache, feinzottige Auflagerungen, wahrscheinlich tuberculöser Natur.

Nr. 24. Auf beiden Pleurablättern und auf dem Peritoneum frische, trocken-käsige und verkalkte Auflagerungen und Anhängsel. Im Lungengewebe zahlreiche, bis hanfkorngrosse Tuberkel. In den mässig vergrösserten Bronchial-, Mediastinal- und Mesenterialdrüsen vorwiegend verkalkte Herde.

Nr. 25. Im Lungen- und Leberparenchym frische, verkäste und verkalkte Herde. In den Bronchial-, Mediastinal, Mesenterial- und den portalen Lymphdrüsen vorwiegend verkäste Herde neben frischen und verkalkten.

Nr. 26. Im Lungengewebe, in den Bronchial- und Mittelfelldrüsen vereinzelte, bis bohnengrosse Tuberkelherde; meist von käsiger, festweicher Beschaffenheit.

Nr. 27. Im Lungengewebe mässig zahlreiche, bis faustgrosse, käsige und käsig-eitrige Herde. In den retropharyngealen, den Bronchial- und Mediastinaldrüsen bis haselnussgrosse, weich-käsige Herde.

Nr. 28. Gesund.

Nr. 29. Im Lungengewebe mehrere, bis haselnussgrosse, trocken-käsige und verkalkte Herde; ausserdem ein Abscess mit tuberkeldurchsetzter Kapsel. In den Bronchial-, Mediastinal- und Mesenterialdrüsen mehrere, bis hanfkorngrosse Herde von gleicher Beschaffenheit. Pleura ziemlich stark mit frischen, bis handtellergrossen Tuberkelconglomeraten und mit sammetartigem Belage bedeckt.

Nr. 30. Gesund.

Nr. 31. Im Lungengewebe einzelne, bis haselnussgrosse, käsig-eitrige Tuberkelherde. Beide Pleurablätter dicht mit grauen, stellenweise bis 3 ^{cm} starken tuberculösen Auflagerungen bedeckt. Herzbeutel durch eine 0·5 bis 1·5 ^{cm} starke Tuberkelschicht ausgefüllt.

Nr. 32. Im Lungen- und Lebergewebe vereinzelte, bis erbsengrosse, verkäste und verkalkte Tuberkel. In den wenig vergrösserten Bronchial-, Mediastinal-, Mesenterial- und den portalen Lymphdrüsen neben frischen auch mehrere verkäste und verkalkte Tuberkel.

Nr. 33. Gesund.

Nr. 34. Nicht tuberculös. Wegen Kachexie beanstandet.

Nr. 35. Im Lungengewebe einige kleine bronchopneumonische Herdchen. Am scharfen Rand der Lungen zottige Anhängsel vermuthlich tuberculöser Natur.

Nr. 36. Gesund.

Nr. 37. Auf beiden Pleurablättern ein geringer, meist frischer Belag, untermischt mit spärlichen, verkästen und verkalkten Tuberkeln. In den mässig vergrösserten Bronchial-, Mediastinal-, Mesenterial- und den portalen Lymphdrüsen neben frischen zahlreiche verkäste und mehr oder weniger verkalkte Herde.



Nr. 38. Im Lungengewebe mehrere bis haselnussgrosse, käsige, bronchopneumonische Herde. Bronchial- und Mediastinaldrüsen mit frischen, verkästen und verkalkten Tuberkeln durchsetzt. (Im Lungengewebe spärliche, im Leberparenchym eine grössere Anzahl Echinokokken.)

Nr. 39. Gesund.

Nr. 40. Gesund.

Nr. 41. Keine tuberculösen Veränderungen. Lungen und Leber mit Echinokokken durchsetzt.

Nr. 42. Serosa der Brust- und Bauchhöhle sammt den Organüberzügen dicht besetzt mit kleineren und grösseren, meist etwa erbsengrossen, aber auch bis pflaumengrossen Tuberkeln; die Tuberkel sind theils frisch, theils verkäst, grösstentheils aber bereits fast ganz verkalkt. Das Lungengewebe ist mit Tuberkelherden von gleicher Beschaffenheit stark durchsetzt. Retropharyngeale, Mittelfell- und Gekrösdrüsen stark vergrössert, dicht mit Tuberkeln aller Stadien durchsetzt; Bronchialdrüsen, überfaustgross, bilden eine zusammenhängende kalkige Masse. Bug-, Kniefalten- und Kniekehldrüsen etwas geschwollen und leicht geröthet; sichtbare Tuberkel enthalten sie nicht. In der linken Niere mehrere ungefähr hanfkorngrosse, central verkäste und zum Theil schon stark verkalkte Tuberkel. Gut genährtes Thier. Fleisch sterilisirt.

Nr. 43. Gesund.

Nr. 44. Serosa der Brust und Bauchhöhle sammt den Organüberzügen mit spärlichen, bis haselnussgrossen, meist verkästen und schwach verkalkten Tuberkeln besetzt. Ebensolche Herde enthält in mittlerer Menge das Lungen- und das Leberparenchym. Bronchial- und Mediastinaldrüsen doppeltfaustgross, in den Aussenpartieen sehr dicht mit trocken-käsigen und verkalkten Tuberkeln durchsetzt, das Centrum der Drüsen durch eine weich-käsige, fast flüssige, stark mit Kalkkörnern durchsetzte Zerfallsmasse ausgefüllt. Abgemagertes Thier. Fleisch zur menschlichen Nahrung ungeeignet befunden.

Nr. 45. Auf der rechtsseitigen Pleura ein geringer, sammetartiger, röthlicher Belag. Im Lungengewebe spärliche, bis walnussgrosse, bronchopneumonische Herde. In den mässig vergrösserten Bronchial- und Mittelfelldrüsen mehrere bis erbsengrosse, weich-käsige Herde.

Nr. 46. Auf Brust- und Bauchfell ausgedehnter, dünner, tuberculöser Belag, theils graugelb und gallertartig, theils mehr oder weniger intensiv roth, feinzottig, untermischt mit älteren, central verkästen Tuberkeln. In den Parenchymen der Eingeweide sind keine Tuberkel auffindbar. In den Mittelfell- und den Gekrösdrüsen sind mässig zahlreiche, hirsekorn- bis erbsengrosse Tuberkel vorhanden. Die Uterusschleimhaut beherbergt miliare Tuberkel in mittlerer Menge.

Nr. 47 und 48. In den wenig vergrösserten Bronchial- und Mediastinaldrüsen spärliche, bis erbsengrosse, central trocken-käsige oder verkalkte Tuberkel. In den Eingeweideparenchymen und auf den serösen Häuten keine tuberculösen Veränderungen nachweisbar.

Nr. 49. Auf der Pleura mehr oder weniger dunkelrother, feinzottiger Belag. Im Lungengewebe zahlreiche, bis walnussgrosse, vorwiegend weichkäsige, bronchopneumonische Herde. Im Leberparenchym mehrere, meist nur hirsekorngrosse Herdchen. In den mässig vergrösserten Bronchial-, Mediastinal-, Mesenterial- und Portaldrüsen zahlreiche, meist trocken-käsige und verkalkte Tuberkel.

Nr. 50. Auf beiden Pleurablättern geringer Belag; Pseudoligamente. Im Lungengewebe selbst sind keine Tuberkelherde zu entdecken. Bronchial- und Mittelfelldrüse wenig vergrössert und mit spärlichen trocken-käsigen und verkalkten Tuberkeln durchsetzt.

Nr. 51. Auf beiden Pleurablättern geringer Belag; meist schwach verkalkte Knötchen. In der Lunge ausser etlichen Echinokokken mehrere Tuberkelherde, deren ältere Partieen bereits Verkalkung aufweisen. Bronchial- und Mittelfelldrüsen mässig vergrössert, mit vorwiegend schwach verkalkten, bis erbsengrossen Tuberkeln durchsetzt.

Nr. 52. Im Lungenparenchym mässig zahlreiche, bis erbsengrosse Tuberkelherde, meist von trocken-käsiger Beschaffenheit. Eben solche bis haselnussgrosse Herde befinden sich in den Bronchial- und den hinteren Mittelfelldrüsen.

Nr. 53. Auf beiden Pleurablättern zerstreute, bis haselnussgrosse, meist trocken-käsige und verkalkte Tuberkel. Ebensolche Herde im Lungengewebe und in den mässig vergrösserten Bronchial- und hinteren Mittelfelldrüsen.

Nr. 54. Auf beiden Pleurablättern ziemlich starke, bis faustgrosse, traubenförmige Auflagerungen; meist trocken-käsig oder verkalkt. Im Lungengewebe bis walnussgrosse, käsig-eitrige Herde. Bronchial- und Mittelfelldrüsen bis faustgross und mit zahlreichen, meist trocken-käsigen Tuberkeln durchsetzt.

Nr. 55. Im Lungengewebe neben zahlreichen, grossentheils untergegangenen Echinokokken mehrere weich-käsige, bronchopneumonische Herde. In den wenig vergrösserten Bronchial- und Mittelfelldrüsen spärliche, bis haselnussgrosse, meist trocken- oder weich-käsige Herde. Fleisch zur Sterilisation bestimmt.

Nr. 56, 57 und 58. Gesund.

Nr. 59. Pleura und Peritoneum mit verkalkten, meist etwa erbsengrossen Tuberkeln stark besetzt. Im Lungen- und im Lebergewebe neben älteren käsige und käsig-eitrige Tuberkelherde in erheblicher Zahl. In den zugehörigen Lymphdrüsen und in einer Kniefaltendrüse bis erbsengrosse, trockene, central verkalkte Tuberkel. Eitrige Mastitis. Fleisch sterilisirt.

Nr. 60. Pleura und Peritoneum sehr stark mit käsig-kalkigen Tuberkeln besetzt. Eben solche Tuberkel befinden sich neben käsig-eitrigen in der Lunge, der Leber, der Milz und den zugehörigen, sowie den mesenterialen Lymphdrüsen. Diese Drüsen sind zugleich sarkomatös verändert, bis doppeltfaustgross. Fleisch für genussuntauglich erklärt.

Nr. 61. In den Lungen, sowie in den mässig vergrösserten Bronchial- und Mittelfelldrüsen neben wenigen frischen zahlreiche in Verkäsung und Verkalkung begriffene Tuberkelherde.

Nr. 62. Auf dem Brustfell frischer tuberculöser Belag. In den Lungen, den Bronchial- und Mittelfelldrüsen neben verkalkten und trocken-käsigen auch frischere, erst verkäsende Tuberkelherde.

Nr. 63. Im Lungengewebe und in den Bronchialdrüsen spärliche, hart verkalkte Tuberkel.

Nr. 64. Gallertartiger und feinzottiger Belag, mit spärlichen Knötchen durchsetzt, auf dem Brust- und Bauchfell. Im Gewebe der Lunge, der Leber und der Milz zahlreiche, bis walnussgrosse, frische und käsig-eitrige, zum Theil schwach kalkhaltige Herde. In den recht erheblich vergrösserten



Lymphdrüsen dieser Organe und des Mesenteriums zahlreiche Tuberkel gleicher Art. Hochgradige Kachexie. Fleisch genussuntauglich.

Nr. 65. Auf der Pleura geringer Belag von frischen und verkästen Tuberkeln. Im Lungengewebe spärliche Tuberkel; ebenso in den nur wenig vergrösserten Bronchial- und Mittelfelldrüsen.

Nr. 66. Im Lungen- und im Leberparenchym mässig zahlreiche, bis erbsengrosse, vorwiegend trocken-käsige und verkalkte Tuberkel. In den wenig vergrösserten Bronchial-, Mittelfell-, Portal- und Gekrösdrüsen mässig zahlreiche Tuberkel von gleicher Beschaffenheit.

Nr. 67. Pleura in ausgedehntem Maasse mit Tuberkelherden bis zu Faustgrösse bedeckt. Im Lungengewebe und den zugehörigen stark vergrösserten Lymphdrüsen umfangreiche tuberculöse Veränderungen; vorwiegend verkalkt. In den Nieren mehrere Tuberkelherde käsig-eitriger und central verkalkter Tuberkel. Mesenterialdrüsen faustgross, in toto verkalkt. Kachexie. Fleisch genussuntauglich.

Nr. 68 und 69. Gesund.

Nr. 70. Auf dem Brust- und Bauchfell, im Lungen-, Leber-, Milz- und Nierenparenchym, sowie in den entsprechenden, durchweg stark vergrösserten Lymphdrüsen neben frischen sehr zahlreiche, meist käsig-eitrige Tuberkelherde bis zu Walnussgrösse. Fleisch zum Genuss untauglich befunden.

Nr. 71. Im Lungengewebe, auf der Pleura und im Peritoneum, in den Bronchial-, den Mittelfell- und den Gekrösdrüsen mässig zahlreiche, bis walnussgrosse, theils frische, theils trocken-käsige und mehr oder weniger verkalkte Tuberkelherde.

Nr. 72. Auf den serösen Häuten und in den Eingeweiden (Parenchym) keine Tuberkel auffindbar. In den wenig vergrösserten Bronchial- und Mediastinaldrüsen spärliche, bis erbsengrosse, trocken-käsige und verkalkte Tuberkel.

Nr. 73. In der Lunge bis faustgrosse, in der Leber, in den Lungen- und Leberlymphdrüsen bis walnussgrosse, vorwiegend verkäste, zum Theil in Verkalkung begriffene neben spärlichen, frischeren Tuberkelherden.

Nr. 74. Im Lungengewebe neben wenigen frischen vereinzelte verkäste Tuberkelherde. Eben solche Herde befinden sich in den wenig vergrösserten Bronchial- und Mittelfelldrüsen.

Nr. 75. Im Lungengewebe bis walnussgrosse, bronchopneumonische, käsige Herde. Bronchial- und Mediastinaldrüsen stark vergrössert und fast ganz in trocken-käsige, schwach kalkhaltige Tuberkelmassen umgewandelt. Auf der Pleura mässig ausgebreiteter, sammetartiger röthlicher Belag.

Nr. 76. Geringer feinzottiger Belag auf der Pleura. In den Bronchialdrüsen vereinzelte, bis erbsengrosse, trocken-käsige Tuberkel; im Lungengewebe sind keine Tuberkel auffindbar.

Nr. 77. Auf der Pleura geringer tuberculöser Belag. Im Gewebe der Lunge und der Milz, in den Bronchial-, Mediastinal-, Portal-, Mesenterial- und den Euterlymphdrüsen frische und käsig-eitrige, bis faustgrosse Tuberkelherde. Fleisch sterilisirt.

Nr. 78. Gesund.

Tabelle I.

Rinderserum-Proben.

Nummer	Diagnose	Agglutination negativ	Agglutination positiv 1:5	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50
1	Gesund		+	+	+	+	–	
2	„		+	+	+	+	–	
3	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	+	+	–	
4	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	?	–			
5	Beginnende Tuberculose . . .		+	+	–			
6	Gesund		+	+	+	–		
7	„		+	+	+	–		
8	Beginnende Tuberculose . . .		+	+	–			
9	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	+	–		
10	Gesund		+	+	+	–		
11	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	+	–		
12	Ganz beginnende Tuberculose		+	?	–			
13	Beginnende Tuberculose . .		?	–				
14	„ „ . .		?	–				
15	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	+	–		
16	Echinokokken		+	+	+	–		
17	Tuberculose mittleren Grades .		+	?	–			
18	Leberabscess		+	+	+	–		
19	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	+	–		
20	Beginnende Tuberculose . . .	–						
21	Gesund		?	–				
22	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	–			
23	Ganz beginnende Tuberculose .		+	+	+	–		
24	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	+	–		
25	„ „ „		+	+	+	–		
26	„ „ „		+	+	+	–		
27	„ „ „		+	+	–			
28	Gesund		+	?	–			
29	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	?	–		
30	Gesund	–						
31	Vorgeschrittene Tuberculose .	–						
32	Tuberculose mittleren Grades .	–						
33	Gesund		+	+	–			
34	Kachexie		+	–				
35	Beginnende Tuberculose . . .	–						
36	Gesund		?	–				
37	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	–			
38	„ „ „	–						
39	Gesund		+	+	+	+	?	–

Tabelle I. (Fortsetzung.)

Nummer	Diagnose	Agglutination negativ	Agglutination positiv 1:5	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50
40	Gesund		+	+	+	+	?	—
41	Echinokokken		+	+	+	—		
42	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	+	—		
43	Gesund		+	+	+	+	+	—
44	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	+	+	?	—
45	Beginnende Tuberculose . . .		+	+	+	+	—	
46	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	?	—		
47	Beginnende Tuberculose . . .		+	+	—			
48	„ „ . . .	—						
49	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	?	—		
50	Beginnende Tuberculose . . .		?	—				
51	Tuberculose mittleren Grades .		+	?	—			
52	„ „ „		+	—				
53	„ „ „		+	—				
54	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	—				
55	Tuberculose mittleren Grades .		+	—				
56	Gesund		+	+	?	—		
57	„		+	?	—			
58	„		+	+	—			
59	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	—			
60	„ „		+	+	+	—		
61	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	—			
62	„ „ „		+	+	+	—		
63	Beginnende Tuberculose . . .		+	+	?	—		
64	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	—			
65	Beginnende Tuberculose . . .		+	+	?	—		
66	Tuberculose mittleren Grades .		+	?	—			
67	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	+	—		
68	Gesund		+	?	—			
69	„		+	?	—			
70	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	?	—		
71	Tuberculose mittleren Grades .		+	+	+	+	?	—
72	Beginnende Tuberculose . .		+	?	—			
73	Vorgeschrittene Tuberculose .		+	+	?	—		
74	Beginnende „		+	+	—			
75	Vorgeschrittene „		+	?	—			
76	Beginnende „		+	?	—			
77	Vorgeschrittene „		+	—				
78	Gesund		+	+	?	—		



Tabelle II.
Rinderserum-Proben.

	Nummer	Diagnose	Agglutination negativ	Agglutination positiv 1:5	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50
I	30	Gesund	—						
	21	„		?	—				
	36	„		?	—				
	28	„		+	?	—			
	57	„		+	?	—			
	68	„		+	?	—			
	69	„		+	?	—			
	33	„		+	+	—			
	58	„		+	+	—			
	56	„		+	+	?	—		
	78	„		+	+	?	—		
	6	„		+	+	+	—		
	7	„		+	+	+	—		
	10	„		+	+	+	—		
	1	„		+	+	+	+	—	
	2	„		+	+	+	+	—	
	39	„		+	+	+	+	?	—
	40	„		+	+	+	+	?	—
	43	„		+	+	+	+	+	—
II	34	Kachexie		+	—				
	16	Echinokokken		+	+	+	—		
	18	Leberabscess		+	+	+	—		
	41	Echinokokken		+	+	+	—		
III	12	Ganz beginnende Tubercul.		+	?	—			
	23	„ „ „		+	+	+	—		
IV	20	Beginnende Tuberculose .	—						
	35	„ „	—						
	48	„ „	—						
	13	„ „		?	—				
	14	„ „		?	—				
	50	„ „		?	—				
	72	„ „		+	?	—			
	76	„ „		+	?	—			
	5	„ „		+	+	—			
	8	„ „		+	+	—			
	47	„ „		+	+	—			
	74	„ „		+	+	—			
	63	„ „		+	+	?	—		

Tabelle II (Fortsetzung).

	Nummer	Diagnose	Agglutination negativ	Agglutination positiv 1:5	1:10	1:20	1:30	1:40	1:50
	65	Beginnende Tuberculose .		+	+	?	—		
	45	„ „		+	+	+	+	—	
V	32	Tuberculose mittl. Grades	—						
	38	„ „ „	—						
	52	„ „ „		+	—				
	53	„ „ „		+	—				
	55	„ „ „		+	—				
	17	„ „ „		+	?	—			
	51	„ „ „		+	?	—			
	66	„ „ „		+	?	—			
	22	„ „ „		+	+	—			
	27	„ „ „		+	+	—			
	37	„ „ „		+	+	—			
	61	„ „ „		+	+	—			
	29	„ „ „		+	+	?	—		
	46	„ „ „		+	+	?	—		
	15	„ „ „		+	+	+	—		
	19	„ „ „		+	+	+	—		
	24	„ „ „		+	+	+	—		
	25	„ „ „		+	+	+	—		
	26	„ „ „		+	+	+	—		
	62	„ „ „		+	+	+	—		
	3	„ „ „		+	+	+	+	—	
	71	„ „ „		+	+	+	+	?	—
V	31	Vorgeschritt. Tuberculose	—						
	54	„ „		+	—				
	77	„ „		+	—				
	4	„ „		+	?	—			
	75	„ „		+	?	—			
	59	„ „		+	+	—			
	64	„ „		+	+	—			
	49	„ „		+	+	?	—		
	70	„ „		+	+	?	—		
	73	„ „		+	+	?	—		
	9	„ „		+	+	+	—		
	11	„ „		+	+	+	—		
	42	„ „		+	+	+	—		
	60	„ „		+	+	+	—		
	67	„ „		+	+	+	—		
	44	„ „		+	+	+	+	?	—

In Tabelle I sind die einzelnen Fälle in der Reihenfolge angegeben wie in den Obductionsprotocollen, mit Angabe der entsprechenden Agglutinationsverhältnisse. Wir ersehen zunächst aus den Tabellen, dass unter den 78 von uns untersuchten Rindern 19 gesunde Thiere waren, bei denen keine Tuberculose nachgewiesen werden konnte. Darunter ist jedoch nur ein einziger Fall, wo die Serumreaction negativ ausfiel, während in 2 Fällen dieselbe bei 1:5 fraglich erschien und in 4 Fällen bei 1:5 deutlich positiv ausgefallen ist. Deutliche Agglutination bei 1:10 sehen wir in 4 Fällen und 3 Mal deutlich bei 1:20. In 4 Fällen ist die Serumreaction positiv bei 1:30 und in einem Falle sogar deutlich noch bei 1:40. Da in den Protocollen auf die Drüsen u. s. w. genaue Rücksicht genommen worden ist, so wäre nur anzunehmen, dass in dem einen oder anderen Fall noch sonst irgendwo, z. B. im Knochenmark, der Sitz der Tuberculose gewesen sein könnte, und da die Knochen nicht weiter untersucht worden sind, der Erkrankungsherd uns entgangen ist. Bei der grossen Anzahl der positiv ausgefallenen Reactionen würde man aber dabei doch entschieden zu weit gehen, wollte man annehmen, dass in 12 Fällen, die nach Arloing-Courmont doch tuberculös sein mussten, da die Reaction stärker war als 1:5, uns der Krankheitsherd entgangen wäre. Dazu kommen noch aus Rubrik II der Tabelle II 4 Rinder, die gleichfalls keine Tuberculose zeigten und doch deutliche Serumreaction aufwiesen. Und wenn wir von dem einen Fall, der im Verhältniss von 1:5 agglutinirte, absehen, so war bei den drei anderen, dem Agglutinationsverhältniss 1:20 entsprechend, nach Arloing-Courmont also sicher Tuberculose anzunehmen.

Sehen wir unter den gesunden Thieren keine gleichmässigen Verhältnisse, so tritt dies in gleicher Weise und zum Theil noch prägnanter hervor bei den tuberculösen Thieren. In Rubrik III und IV sind die Thiere aufgeführt, welche einen eben makroskopisch deutlichen Herd von Tuberculose in ihrem Körper beherbergen, also für die Courmont'sche Reaction ausschlaggebend sein mussten. Wir sehen uns hier aber geradezu enttäuscht, wenn wir unsere Tabelle überblicken. Rubrik III und IV weist 17 Thiere auf, welche die allerersten Zeichen der Tuberculose darbieten: Auflagerungen auf der Pleura, kleine broncho-pneumonische Herde, leicht vergrösserte Bronchial- und Mediastinaldrüsen, also sichere Zeichen von Tuberculose. Dabei geben dieselben doch einen so verschiedenen Ausfall der Serumreaction. In Nr. 47 und 48, wo nach den Protocollen der Befund beider Thiere der gleiche ist, sehen wir bei dem ersten Thier eine Reaction im Verhältniss 1:10 und bei dem anderen gar keine auftreten. Andererseits sind jedoch bei den Thieren Nr. 20 und 35, bei welchen die Reaction negativ ausgefallen war, deutliche, wenn auch



geringfügige Veränderungen tuberculöser Natur, wie pleuritische Auflagerungen, kleine broncho-pneumonische Herdchen in den Lungen. Oder wir sehen die Bronchial- oder retropharyngealen Drüsen vergrössert und tuberculös entartet wie bei Nr. 13, 14 und 50, wo die Arloing-Courmont'sche Reaction bei 1:5 nur zweifelhaft war, also sicher nicht den vorgeschriebenen Grad von 1:5 voll erreicht hat. Dann sehen wir in Rubrik III und IV wieder in 3 Fällen ein positives Auftreten der Reaction bei 1:5, in 6 Fällen bei 1:10, und in je einem Fall bei 1:20 und 1:30. Also auch hier, wo nach Arloing und Courmont die Reaction entscheidend sein soll, lässt sie vollständig im Stich und giebt uns ebenso ungleichmässige Resultate wie bei den gesunden Thieren. Genau so liegen aber auch die Verhältnisse bei den Fällen mit Tuberculose mittleren Grades, wo wir die Lungen schon mit mehr oder weniger ausgedehnten tuberculösen Herden durchsetzt finden. Unter den 22 Fällen, die wir in diese Rubrik (V) rechnen, war in 2 Fällen die Serumreaction ganz ausgeblieben, bei 1:5, 1:10 und 1:20 war sie in je 6 Fällen positiv und in 2 Fällen noch im Verhältniss von 1:30. Die nämlichen ungleichmässigen Resultate begegnen uns aber auch wieder in der Rubrik VI, in welcher 16 Thiere mit vorgeschrittener Tuberculose verzeichnet sind. Unter diesen Blutproben war die Serumreaction negativ in einem Fall. In 4 Fällen sehen wir die Reaction mit dem Werthe 1:5, in 5 mit 1:10, in 5 mit 1:20 und in 1 Fall mit 1:30 angegeben.

Am deutlichsten glauben wir das ungleichmässige Auftreten der Serumreaction bei den einzelnen Thieren in der zweiten Tabelle veranschaulichen zu können, wo wir die einzelnen Rubriken in der Weise zusammengestellt haben, dass die betreffenden Thiere nicht in der Reihenfolge der Protocolle aufgezeichnet sind, sondern nach dem Verhalten des Blutes der Thiere zu der Arloing-Courmont'schen Serumreaction, und zwar so, dass zu oberst die Proben angeführt sind, welche keine Reaction zeigen, und darauf diejenigen Proben folgen, die eine Verhältnissziffer 1:5 u. s. w. aufweisen.

Diese Tabelle zeigt aber die Unregelmässigkeit des Auftretens der Serumreaction in so prägnanter Weise, dass wir derselben eine weitere Erklärung kaum glauben beifügen zu müssen.

Im Anschluss daran möchten wir noch kurz über die Prüfung der Arloing-Courmont'schen Reaction sprechen, die wir bei 1 Kuh und 8 Kälbern anstellten, von denen die letzteren vor $^1/_2$ Jahr mit menschlicher Tuberculose inficirt worden waren. Die Kuh, welche zu anderweitigen Zwecken gebraucht und dann geschlachtet wurde, ist genau bis auf das Knochenmark untersucht worden, zeigte aber nirgends auch nur eine Spur von Tuberculose; das Blutserum dieser Kuh agglutinirte jedoch

deutlich bei 1:20. Von den mit menschlicher Tuberculose inficirten Kälbern hatten nur zwei ein im Verhältniss von 1:10 agglutinirendes Serum; das Blutserum von einem Thier, welches in's Auge geimpft worden war, und bei dem das Auge vollständig verkäste, zeigte keine agglutinirenden Eigenschaften, die übrigen 5 Kälber agglutinirten im Verhältniss 1:5. Bei diesen 8 Kälbern war eine deutliche Tuberculose, wenn auch nur an der Impfstelle, zu constatiren.

Also auch hier sehen wir, wie oben, kein einheitliches Bild.

Wenn wir einen Schluss aus den Versuchen ziehen, so müssen wir nach diesen Experimenten beim Rinde gleichfalls sagen, dass die Arloing-Courmont'sche Serumreaction nicht geeignet ist, aus dem positiven Ausfall der Reaction eine vorhandene Tuberculoseerkrankung abzuleiten, sowie bei negativem Ausfall dieselbe auszuschliessen. Wir können nur wiederholen, was wir bei den Untersuchungen von menschlicher Tuberculose schon früher gesagt haben, dass die Serumreaction für die Diagnose der Tuberculose nicht verwendbar ist, da die Resultate zu ungleichmässig sind und keinen einheitlichen Charakter zeigen, indem sie einmal bei notorisch Gesunden auftreten, andererseits aber wieder bei Fällen von beginnender Tuberculose im Stich lassen.

[Aus dem staatlichen hygienischen Institut zu Hamburg.]
(Director: Prof. Dr. Dunbar.)

Ueber Gesundheitsschädlichkeit der Borsäure als Conservirungsmittel für Nahrungsmittel.

Von

Dr. **J. Kister,**
Assistenten am Institut.

Bei der Frage, ob ein Conservirungsmittel durchaus unschädlich sei, dürfen vornehmlich drei Punkte nicht ausser Acht gelassen werden:

1. ist festzustellen, ob die Stoffe, wenn sie sich bei einmaliger Dosis als unschädlich erweisen, auch dann unschädlich für den Organismus sind, wenn sie demselben dauernd zugeführt werden; denn dieselben werden nicht immer sofort wieder aus dem Körper entfernt, und es ist daher die Möglichkeit einer cumulativen Wirkung gegeben. Deshalb auch und weil Conservirungsmittel nicht nur in einem, sondern in allen möglichen Nahrungsmitteln sich finden, und so mit den verschiedenen conservirten Lebensmitteln zusammen grössere Mengen eines Conservirungsmittels in den Organismus gelangen können, ist

2. die Wirkung grösserer Quantitäten, als im einzelnen Falle zur Conservirung eines Nahrungsmittels verwendet werden, zu berücksichtigen. Dass solche Verbindungen, welche schon in kleinen Mengen schädlich wirken, also giftig sind, von einer Verwendung als Conservirungsmittel ausgeschlossen werden müssen, ist selbstverständlich. (Gruber.)

3. dürfen die Mittel, wenngleich sie unschädlich für Erwachsene und kräftige Personen sind, dem weniger widerstandsfähigen Organismus jugendlicher und kränklicher Personen nicht schädlich werden. (Rubner.) Auch für Hausthiere sollen die Substanzen unschädlich sein. (Lehmann.)

Die Mengen Borsäure bezw. Borax, die den Nahrungsmitteln zugesetzt werden, sind nicht immer ganz unerheblich.



Popp und Fresenius fanden in frischen Bratwürsten in Büchsen bis zu 0·8711 Borsäure. In Hamburg wurden in Krabben in mehreren Fällen über 1 Procent und bis zu 2·8 Procent Borsäure nachgewiesen. Rechnet man durchschnittlich das Gewicht einer conservirten und geschälten Krabbe auf 0·5 grm und nimmt man an, dass auf einem Rundstück in hiesigen Frühstücksstuben ca. 100 Stück Krabben zur Verwendung kommen, so würde man in letzterem Falle mit jedem Rundstück 1·4 grm Borsäure zu sich nehmen. Nach Polenske enthielten 51 Proben amerikanischen Trockenpökelfleisches in allen Fällen Borax. In neun Proben wurde die Borsäure nur qualitativ nachgewiesen.

2 Proben enthielten weniger als 5 Procent Borax
7 „ „ 0·5—1·0 Procent Borax
19 „ „ 1·0—2·0 „ „
13 „ „ 2·0—3·0 „ „
1 Probe enthielt 3·36 Procent Borax.

Von mancher Seite wird, wenn angängig, eine Entfernung der Borsäure aus der fertigen Conserve vor Gebrauch angerathen und die Möglichkeit einer Auswässerung des betreffenden Nahrungsmittels als Vorbedingung für die Verwendung der Borsäure als Conservirungsmittel angesehen. Für eine Reihe von Conserven ist dieses Wässern von vornherein ausgeschlossen, aber auch beim Fleisch ist eine Entfernung der Borsäure durch Wässern nicht hinreichend möglich.

Heinze konnte beispielsweise in amerikanischem Pökelfleisch, das 1·16 Procent Borsäure enthielt, nach Abwaschen der Fleischstücke unter der Wasserleitung und zwölfstündigem Wässern noch 0·93 Procent Borsäure nachweisen.

Hieraus ist ersichtlich, dass man selbst für den Fall, dass an einem Tage nur ein mit Borsäure conservirtes Nahrungsmittel genossen wird, schon ganz ansehnliche Mengen dieses Conservirungsmittels sich einverleiben kann. Wie oben aber schon erwähnt, werden zahlreiche Nahrungsmittel mit Conservirungsmitteln versetzt, und daher können wir auch mehrfache Quanten der letzteren in den verschiedenen tagsüber genossenen Nahrungsmitteln aufnehmen.

Legen wir uns nun die Frage vor, welche Mengen Borsäure oder Borax dem Nahrungsmittel, um eine hinreichende Conservirung zu erzielen, zugesetzt werden müssten, und welcher Effect damit auf die Bakterien erzielt wird, so ist darauf hinzuweisen, dass die Borsäure, wie von verschiedenen Seiten betont wird, ein sehr wenig wirksames Conservirungsmittel ist.

Einmal in Zersetzung begriffene Nahrungsmittel können durch Borsäure nicht mehr genussfähig erhalten werden. Diese Thatsache wird vielfach, wohl mit Unrecht, zu Gunsten der Borsäure insofern geltend

gemacht, als hervorgehoben wird, dass durch Zusatz von Borsäure eine nicht vorhandene Frische des betreffenden Nahrungsmittels keineswegs vorgetäuscht werden könne. Aber auch frische Nahrungsmittel sind nicht immer einwandsfrei, es kann die Borsäure bei unsauberer Behandlung, Verwendung minderwerthigen oder krankheitskeimhaltigen Materiales das Vorhandensein einer grossen Bakterienzahl oder pathogener Mikroben eine Zeit lang verdecken.

Nach Jules und Stokes hält sich Milch mit 0·1 bis 0·2 Procent Borsäure 64 bezw. 72 Stunden frisch, Rochard konnte bei einem Zusatz von 1 : 1000 eine 24stündige Haltbarkeit der Milch nachweisen. Solchen Angaben ist nicht viel Werth hinsichtlich der Conservirungsfähigkeit der Borsäure beizumessen, weil frische Milch, wie die Beobachtungen von Soxhlet, Plaut u. A. gezeigt haben, auch ohne Conservirungsmittel in Bezug auf Haltbarkeit sich sehr verschieden verhält. Die Bedingungen, unter denen die Milch gewonnen wird, und die Aufbewahrungstemperatur sind hierbei in erster Linie von Bedeutung.

Nach Lazarus ist 1 bis 2 ^{grm} Borsäure pro Liter Milch ohne nennenswerthe Wirkung auf die Haltbarkeit. Milch ist nur durch Borsäure zu conserviren, wenn man mehr zusetzt, als ohne Geschmacksveränderung zulässig ist. Für Milch ist also die Borsäure als Conservirungsmittel durchaus ungeeignet. Schon hierdurch erscheint das Verbot des Zusatzes von Borsäure zu Milch, wie es in Hamburg und anderen Städten besteht, begründet.

Nocard giebt an, dass die Borsäure in der Milch zwar grobsinnliche Veränderungen verhindere, aber nicht die Zersetzung verzögere, es kann also die Milch allein dadurch geradezu gesundheitsgefährlich werden. Aehnlich verhält es sich mit dem Fleische. Liebreich erwähnt, dass die meisten Mikroben durch Borsäure in ihrem Wachsthum behindert, aber nicht abgetödtet werden, Staphylokokken bleiben in 4procent. Lösung noch zehn Tage lebensfähig. Es kann also frisches, mit pathogenen Keimen behaftetes Fleisch, welches gesundheitsschädlich ist und durch die Wucherung dieser Keime bald auch ungeniessbar gemacht würde, mittels der Borsäure längere Zeit genussfähig erhalten werden, ohne dass ihm seine Gesundheitsschädlichkeit genommen wird.

Von Fodor konnte für die Bedenklichkeit der Borsäure bezw. des Borax Thierversuche anführen. Derselbe hat das anscheinend frische und gesunde Fleisch von mit Milzbrand geimpften, darauf getödteten Thieren mit Borax bestreut. Nach zwei bis drei Tagen sah das Fleisch noch gut aus, obgleich es von Milzbrandbacillen durchsetzt war, während eine Controlprobe von nicht mit Borax versetztem Fleisch faul und ungeniessbar geworden war. Er schlägt daher vor, den Zusatz aller Antiseptica zu untersagen. v. Fodor hat seine Versuche mit Milzbrandbacillen aus-



geführt, dasselbe was aber für diese gilt, kommt auch für andere pathogene Bakterien in Betracht: die Anwesenheit solcher Krankheitserreger im Fleisch kann durch Behandlung des letzteren mit Borsäure oder Borax verdeckt werden. Das wertvolle Charakteristicum, das schnelle Faulen eines Fleisches, welches von kranken Thieren stammt, geht durch den Zusatz von Conservirungsmitteln verloren. (Liquières.)

Nach Petterson ist die Borsäure für Fisch und Fleisch ein ganz ungeeignetes Conservirungsmittel.

Gute Waare lässt sich aber in unserem Klima für die praktischen Verkehrsbedürfnisse bekanntlich ohne Borsäure hinreichend lange Zeit genussfähig erhalten. Aus diesen Gründen ist nach dem Gutachten des obersten Sanitätsrathes in Wien principiell der Zusatz derartiger Conservirungsmittel, auch wenn eine Gesundheitsschädigung durch diese nicht bedingt wird, als unzulässig erklärt worden.

Ueber die Zulässigkeit der Borsäure als Conservirungsmittel hinsichtlich ihrer Gesundheitsschädlichkeit sind die Ansichten noch getheilt.

Während von einer Reihe von Autoren, Liebreich, Kayser u. A., der Verwendung von Conservirungsmitteln das Wort geredet wird, Liebreich sogar dazu neigt, die Borsäure als nützlich für den menschlichen Organismus anzusprechen, wird von anderen die Verwendung von Borsäure für bedenklich gehalten und Verbot bezw. wenigstens Declarationszwang gefordert.

Auf dem X. internationalen Congress für Hygiene und Demographie zu Paris sprach man sich neuerdings mit grosser Majorität gegen die Zulässigkeit der Hinzufügung von Antiseptica zu den Nahrungsmitteln aus.

Rubner bezeichnet den freien Gebrauch der Conservirungsmittel als sehr gefährlich für das Publicum: Die Grenzen der erlaubten Dosen sind nicht zu fixiren, da man mit verschiedenen Nahrungsmitteln auch eine Reihe von Conservirungsmitteln consumiren kann, deren Gesammtwirkung nicht zu übersehen ist. Unschädliche Dosen haben keine schützende Wirkung. Will man die unschädliche Dosis bestimmen, so muss dieselbe auch für Kinder, Greise und schwächliche Personen bestimmt werden, und ist dieses geschehen, so ist noch keine Garantie gegeben dafür, dass diese Grenzen auch wirklich eingehalten werden.[1]

Eine directe Erkrankung mehrerer Personen nach Genuss borsäurehaltiger Speise glaubt Robinson nachgewiesen zu haben.

Robinson berichtet, dass von sieben Personen, die Borsäure enthaltendes Blanc-manger genossen hatten, fünf plötzlich erkrankt seien, und dass neun Hühner, welche mit den Resten dieses Blanc-manger ge-

[1] Nach Fertigstellung vorliegender Arbeit erschien in der *Hygienischen Rundschau* (1901, Nr. 6) eine Arbeit von R. Abel, die sich ebenfalls gegen die Verwendung von Antiseptica wendet.

füttert waren, ebenfalls erkrankten und fünf von ihnen starben. Robinson führt diese Erscheinungen auf den Genuss der Borsäure zurück und sieht darin einen directen Beweis für die schädlichen Wirkungen der Borsäure. Dieser Anschauung hält Liebreich mit Recht entgegen, dass der Beweis der Schädlichkeit der Borsäure in diesem Falle nicht erbracht sei, weil das Blanc-manger Zuthaten, wie Vanille, bittere Mandeln u. s. w., erhalte, die bekanntermaassen gelegentlich eine Vergiftung hervorzurufen geeignet seien. Im Anschluss hieran hat Liebreich Versuche ausgeführt, auf die ich weiter unten noch zurückkomme.

Auch Kühnau erwähnt einen Fall von Erkrankung einer ganzen Familie nach Genuss borsäurehaltiger Blutwurst. Zur Herstellung der letzteren war ausländische, mit Borsäure conservirte Leber verwendet worden.

Ueber die Gesundheitsschädlichkeit der Borsäure liegt nur eine kleine Zahl von Versuchen vor, insbesondere mangelt es an einschlägigen Versuchen an Menschen. Binswanger konnte nach Einnahme von im Ganzen 1·8 grm an einem Tage keine schädliche Wirkung an sich constatiren, erst bei Einnahme von über $3^1/_2$ grm Borsäure und einer gleichen Dosis nach zwei Stunden trat Erbrechen auf. Nach Polli nahmen acht Personen während vier Tagen je 2 grm Borsäure täglich und während 23 Tagen je 4 grm täglich in Milch ohne nachtheilige Wirkung. Liebreich führt an, ohne selbst Versuche an Menschen ausgeführt zu haben, dass der längere Zeit fortgesetzte Gebrauch von 1·2 grm Borsäure nicht gesundheitsschädlich wirkt und selbst für den Gebrauch doppelter Quantitäten bisher keine Schädigungen erwiesen sind, dass diese Dosen vielmehr weit hinter jener Quantität zurückbleiben, welche auf den Organismus belästigend einwirken kann. Nach Lehmann werden 1 bis 3 grm pro Tag eine Reihe von Tagen ohne jeden Einfluss auf das subjective Befinden vertragen. Dass auch gelegentlich einmal ausserordentliche grosse Dosen vertragen werden, scheint aus dem Falle von Legendre hervorzugehen, den Liebreich citirt. Da hingegen wiesen Forster und Schlenker nach, dass schon bei 1 grm die Wirkung der Borsäure zur Geltung kommt, und 3 grm gesundheitsschädlich wirken insofern, als die Resorption der Nahrungsstoffe beeinträchtigt wird und wahrscheinlich auch Darmepithelien reichlich abgestossen werden und eine erhöhte Abscheidung von Darmschleim statthat. Die Wirkung soll schon nach sehr kleinen Dosen auftreten und hört nicht sofort mit Unterbrechung der Borsäurezufuhr auf, woraus auf eine nachtheilige Wirkung auf die Schleimhaut geschlossen wird. Konrad Mann soll, wie Lehmann angiebt, dieses nicht haben bestätigen können.

Bei den auseinandergehenden Urtheilen über die Zulässigkeit der Borsäure halte ich es für angezeigt, die Ergebnisse der meinerseits vorgenommenen Versuche in Folgendem mitzutheilen.

Tabelle I.

Versuche an Menschen. Dosis: 3 grm Borsäure täglich.

(Die Borsäure wird mit Butter vermengt und auf Brod gestrichen, das mit Braten oder Käse belegt wird.)

Datum 1900	Dr. L.	P.	S.
7. Novbr.	Wohlbefinden, im Urin nach 2 Stunden Borsäure[1], kein Eiweiss	—	—
8. „	Wohlbefinden, im Urin Borsäure, kein Eiweiss	—	—
9. „	desgl.	—	—
10. „	desgl.	—	—
11. „	desgl.	—	—
12. „	desgl.	—	—
13. „	Appetitlosigkeit	—	—
14. „	desgl.	Wohlbefinden, Appetit normal, kein Eiweiss im Urin, Borsäure im Urin	Durchfall, Unwohlsein, Borsäure im Urin, kein Eiweiss
15. „	desgl.	desgl.	Durchfall, Brechreiz, Borsäure im Urin, kein Eiweiss
16. „	Eiweiss im Urin	desgl.	—
17. „	desgl.	Eiweiss im Urin	—
18. „	Versuch unterbrochen	Versuch unterbrochen	—
19. „	kein Eiweiss im Urin	kein Eiweiss im Urin	—

In diesen Versuchen kamen 3 grm (Tabelle I) und 1 grm (Tabelle II) Borsäure pro die mehrere Tage hindurch bei mehreren Versuchspersonen zur Verwendung.

Nach Genuss von 3 grm Borsäure täglich, einer Dosis, die nach dem Eingangs Ausgeführten nicht als ganz abnorm hoch angesehen werden kann, wurden also bei drei gesunden erwachsenen Personen schon nach kurzer Zeit Gesundheitsstörungen durchaus nicht leichter Natur beobachtet, schon am 4. bezw. 10. Tage trat Eiweiss im Urin auf, das nach zwei Tagen wiederum verschwand. Selbst Dosen von 1 grm täglich sind bei vier Versuchspersonen gesunder Constitution anscheinend nicht ohne Wirkung geblieben, wenn es auch nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann, dass einmal eine vermehrte Darmperistaltik auf eine andere Ursache zurückzuführen war.

[1] Die Untersuchungen auf Borsäure wurden durch Hrn. Dr. Levi, Chemiker am hiesigen Institute, ausgeführt.

Tabelle II.

Dosis: 1 grm Borsäure täglich.

(Die Borsäure wird wie beim ersten Versuch verabreicht.)

Datum 1900	I.	II.	III.	IV.	V.	VI. Versuchsperson
26. Novbr.	Wohlbefinden, Borsäure (n. $3^1/_2$ St.) im Urin	Wohlbefinden, Borsäure im Urin	Wohlbefinden, Borsäure im Urin	Wohlbefinden, Borsäure im Urin	Wohlbefinden, Borsäure im Urin	Wohlbefinden, Borsäure im Urin
27. "	"	"	verstärkte Darmperistaltik	"	"	"
28. "	"	"	"	"	"	"
29. "	"	"	"	"	Erbrechen	"
30. "	"	etwas Unwohlsein, Versuch unterbrochen	Stuhlgang normal	"	Versuch unterbrochen	"
1. Decbr.	"	—	"	"	—	"
2. "	Borsäure ausgesetzt	—	Borsäure ausgesetzt	Borsäure ausgesetzt	—	Borsäure ausgesetzt
3. "	1 grm Borsäure wie bisher, etwas Durchfall	—	1 grm Borsäure wie bisher, Stuhlgang beschleunigt	1 grm Borsäure wie bisher, Wohlbefinden	—	1 grm Borsäure wie bisher, Wohlbefinden
4. "	Stuhlgang normal	—	Stuhlgang normal	"	—	"
5. "	"	—	"	"	—	"
6. "	"	—	"	"	—	"
7. "	"	—	"	"	—	"
8. "	"	—	Unwohlsein, Borsäure ausgesetzt	"	—	"
9. "	"	—	Wohlbefinden, Borsäure wie bisher	"	—	"

10. bis 22. December keine Störungen im Wohlbefinden nennenswerther Art, Eiweiss im Urin an keinem Tage nachweisbar.



Um festzustellen, in welcher Zeit etwa die Borsäure den Körper passirt, wurde einer Versuchsperson in zwei Versuchen eine einmalige Dosis von 1·0 bezw. 0·5 grm gegeben und die Zeit bestimmt, wann Borsäure zuerst im Urin nachweisbar war, und wann sie aus demselben verschwand. Ueber die erzielten Resultate giebt folgende Tabelle Aufschluss.

Tabelle III.

Wann ist die Borsäure nach Genuss zuerst im Harn nachweisbar und wann verschwindet sie wieder?

Datum 1900	Dosis der genossenen Borsäure	Borsäure nachweisbar im Harn nach Stunden	Borsäure nicht mehr im Harn nachweisbar am ? Tage	Bemerkungen
28. XI.	1 grm auf Butterbrod	2	3. XII. Spuren 4. XII. „ 5. XII. nicht nachweisbar	keine Störungen im Allgemeinbefinden, kein Eiweiss im Urin.
6. XII.	0·5 grm auf Butterbrod	2	10. XII. Spuren. 11. XII. nicht nachwb.	desgl.

Die Borsäure war demnach nach Genuss von 1·0 grm und von 0·5 grm in beiden Versuchen nach 2 Stunden im Urin nachweisbar, im ersten Versuche verschwand sie am 8. Tage, im zweiten am 5. Tage. Daraus geht hervor, dass bei täglicher Zufuhr von Borsäure auch in kleineren Dosen durch Zurückhaltung von Borsäure im Organismus zeitweise eine grössere Menge zur Einwirkung kommen kann, als der täglich zugeführten entspricht.

Nach dem Ausfall der Versuche kann ich mich nicht der Ansicht erwehren, dass die Borsäure auch in nicht übergrossen Dosen für erwachsene und kräftige Personen bei länger fortgesetztem Gebrauch schädlich wirken kann. Zu diesem Schlusse berechtigen wohl der Befund von Eiweiss im Urin zweier gesunder Personen nach mehrmaligem Genusse der Borsäure, das Auftreten von Durchfall und Brechreiz kurze Zeit nach einer einmaligen Gabe bei einer Versuchsperson, sowie die mehrfach constatirte Vermehrung der Peristaltik selbst nach Genuss kleinerer Mengen Borsäure.

Nun gehen aber einige Autoren so weit, anzunehmen, dass die Borsäure sogar für kränkliche und schwächliche Individuen nicht schädlich sei. An solchen Personen zu experimentiren, halte ich mich nicht für berechtigt, es erscheint mir aber auch nicht dringend nothwendig, denn es kann keinem Zweifel unterliegen, dass bei kränklichen und schwächlichen Organismen schädigende Wirkungen schon in weit kleineren Dosen sich geltend machen müssen.

Um nun des Weiteren einen Ueberblick über die Schädigungen zu erhalten, die die Borsäure dem thierischen Organismus zuzufügen vermag, habe ich auch Thierversuche ausgeführt, über deren Ergebnisse ich weiter unten berichten werde.

Robinson hat, wie bereits erwähnt, einen Fall mitgetheilt, in dem bei Menschen und Hühnern der Genuss einer borsäurehaltigen Speise erhebliche Erkrankungen bezw. bei einer Anzahl Hühnern den Tod hervorgerufen haben soll. Liebreich sieht den Beweis hierfür nicht erbracht und hat zur weiteren Entkräftung der Robinson'schen Behauptung an acht Hühner einen Brei verfüttert, der aus 1000 grm Milch, 200 grm Maisschrot und 6·5 grm Borsäure bereitet war, so dass jedes Thier in drei Tagen etwas über 2·0 grm Borsäure erhielt. Keines der Hühner erkrankte. Ferner erhielten sieben Hühner an einem Tage 1 grm Borsäure in Pillen à 0·05 grm, ohne dass offenkundige Störungen im Wohlbefinden der Thiere beobachtet wurden.

Hunde können nach den vorliegenden Versuchen nachstehend angeführter Autoren grössere Mengen Borsäure ohne erhebliche oder dauernde Schädigung vertragen.

Neumann verfütterte an Hunde von 15 kg Gewicht 5 bis 6 grm Borsäure; ausser Temperaturabfall trat keine nachweisbare Wirkung ein. Eine Steigerung der Dosen rief Durchfall und Erbrechen hervor, und erst 10 grm Borsäure und darüber wirkte tödtlich.

Chittenden und Gies beobachteten bei Borsäure bis zu 3 grm täglich keinen Effect, höhere Dosen riefen Diarrhöe und erhöhte Schleimabsonderungen hervor. Zu ähnlichen Resultaten gelangte Leffmann. Liebreich gab Hunden von 12·74 und 8·53 kg Gewicht 3 bezw. 2 grm Borsäure 36 Tage lang. Am 12. bezw. 15. Tage trat Erbrechen auf, im Uebrigen angeblich keine Störung des Wohlbefindens. Ein dritter Hund erhielt pro Tag 1 grm Borsäure und zeigte 24 Tage lang keine Reaction.

An jungen Hunden konnte dagegen Bonjean eine Wirkung der Borsäure nachweisen: im Verein mit Ponchet fütterte er 13 junge Hunde mit Nahrungsmitteln, die einen geringen Zusatz von Borsäure erhalten hatten; nach sechs Wochen waren alle todt mit allen Zeichen der Inanition.

Um die Schädlichkeit der Borsäure für den jugendlichen Organismus zu erweisen, erschienen Annett besonders junge Katzen im Alter von 3 bis 4 Wochen geeignet zu sein. Nach seinen Versuchen gingen die Katzen bei einem Gehalt von etwa $^1/_2$ und 1 grm Borsäure in einem Liter Milch unter Durchfall und Abmagerung nach vier Wochen zu Grunde. Die in Aussicht gestellten Versuche mit kleineren Dosen sind meines Wissens noch nicht veröffentlicht. Liebreich bemerkt zu den Resultaten Annett's, dass, wenn diese Versuche auf ein 9 bis 10 Monate altes Kind



entsprechend dem Alter der Katzen übertragen werden sollten, die letzteren, seiner Berechnung nach, nur 0·042 grm Borsäure in 100 ccm Milch hätten erhalten dürfen, somit verhältnissmässig zu hohe Dosen bei den Thieren zur Anwendung gekommen seien.

Liebreich stellte auch Versuche mit Kaninchen an. Drei Kaninchen von 1370, 1270 und 1170 grm Gewicht erhielten 31 Tage lang je 0·3 grm Borsäure in 60 ccm Wasser dem Futter beigemengt. Weitere drei Kaninchen erhielten 24 Tage lang 0·1 grm Borsäure in derselben Weise verabreicht. Keines der Versuchsthiere zeigte Krankheitserscheinungen, alle nahmen an Gewicht zu.

In den folgenden Tabellen habe ich die an Hühnern, Hunden, Katzen, Kaninchen und Meerschweinen angestellten eigenen Fütterungsversuche zusammengestellt, die deshalb von Interesse sein dürften, als sie die Zahl der Beobachtungen vermehren, die gegen eine von Liebreich behauptete absolute Unschädlichkeit selbst kleiner Dosen Borsäure für Versuchsthiere sprechen. (Vgl. Tabelle IV bis VIII.)

Aus diesen Versuchen, zu denen noch bemerkt sein mag, dass stets eine entsprechende Anzahl Controlthiere, bei den Katzen möglichst desselben Wurfes, in Beobachtung gestellt wurden, ist man wohl berechtigt den Schluss zu ziehen, dass auf grosse Dosen sämmtliche Versuchsthiere — Hühner, Hunde, Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen — mehr oder weniger reagirten, empfindlichere Thiere — junge Katzen — auch nach Einverleibung kleinerer Dosen — 0·045 bis 0·05 grm pro die auf 375 bis 690 grm Körpergewicht — erkrankten und eingingen. Die in den Tabellen niedergelegten Befunde dürften somit die oben im Gegensatz zu Liebreich aufgestellten Behauptungen zur Genüge begründen.

Hunde, bei denen etwa die von Neumann als Maximaldosis angegebene Menge Borsäure, 5 bis 6 grm, zur Verwendung kam, bezw. beim dritten Hunde etwa die von Liebreich in seinem zweiten Versuche verabreichte Quantität, erkrankten sämmtlich schon nach Kurzem mit Durchfall und Erbrechen, Erscheinungen, die man nicht als bedeutungslos bezeichnen kann. Alle drei Hunde hatten zu Ende des Versuches eine Einbusse an Gewicht erfahren.

Die Hühner vertrugen ohne sichtbare Schädigungen das erste halbe Gramm, zum Theil auch in Uebereinstimmung mit den Liebreich'schen Versuchen eine zweite Dosis von 1 grm. Aber schon nach der dritten Dosis ($^1/_2$ grm) waren die Thiere augenfällig krank und gingen bei abermaliger Verfütterung von $^1/_2$ grm zu Grunde (Huhn I bis III). Drei Hühner erschienen schon nach Verabreichung von $^1/_2$ bezw. 1 grm krank (Huhn IV bis VI), das eine starb nach dreimaliger Verfütterung von $^1/_2$ grm, obgleich es sich in der zwischen den Fütterungstagen liegenden Zeit wieder erholt



	Huhn I		Huhn II		Huhn III		Huhn IV		Huhn V		Huhn VI	
	verab-reichte Dosis Borsäure	Wirkung	verab-reichte Dosis Borsäure	Wirkung	verab-reichte Dosis Borsäure	Wirkung	verab-reichte Dosis Borsäure	Wirkung	verab-reichte Dosis Borsäure	Wirkung	verab-reichte Dosis Borsäure	Wirkung
1. Tag	0·5 grm	—	0·5 grm	—	0·5 grm	—	0·5 grm	—	0.5 grm	—	0·5 grm	—
2. „	—	—	—	—	—	—	—	krank	„	krank	—	sehr krank, wird getödtet.
3. „	2 × 0·5 grm	krank	2 × 0·5 grm	—	2 × 0·5 grm	—	—	frisst nicht	„	„	—	Bors. in Leber u. Niere nachweisb.
4. „	0·5 grm	krank, frisst wenig	0·5 grm	krank	0·5 grm	krank	—	—	—	„	—	—
5. „	„	„	„	krank, Erbrechen	„	krank, Erbrechen	—	erholt sich, frisst reichlich	—	„	—	—
6. „	—	„	—	—	—	†	—	desgl. munter	—	erholt sich etwas	—	—
7. „	—	†	—	Aug.geschl. hockt in einer Ecke	—	—	0·5 grm	—	0·5 grm	—	—	—
8. „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	krank	—	—
9. „	—	—	—	†	—	—	0·5 grm	krank	0·5 grm	„	—	—
10. „	—	—	—	—	—	—	—	desgl. frisst wenig	—	†	—	—
11. „	—	—	—	—	—	—	—	„	—	—	—	—
12. „	—	—	—	—	—	—	—	desgl. liegt in einer Ecke	—	—	—	—
13. „	—	—	—	—	—	—	—	†	—	—	—	—
Menge der im Ganzen gegebenen Bors.:	2·5 grm		2·5 grm		2·5 grm		1·5 grm		2·5 grm		0·5 grm	

Die Borsäure wurde in Pillen à 0·05 grm gegeben. Controlhühner, unter denselben Bedingungen wie die mit Borsäure gefütterten Thiere gehalten, zeigen bis zum heutigen Tage keinerlei Krankheitserscheinungen.

Tabelle V.

Hunde.

	Hund I	Hund II	Hund III	Bemerkungen
Gewicht:	16 500 grm	9800 grm	7300 grm	
Dosis:	6·0 grm tägl.	4·0 grm tägl.	2·5 grm tägl.	
7. Novbr.	munter	munter	munter	Borsäure in Milch verabreicht
8. „	Appetit geringer	Durchfall, Erbrechen	Durchfall, Erbrechen	„
9. „	„	„	„	„
10. „	Gew. 15400 grm	8600 grm	6220 grm	Borsäure in Fleisch verabreicht
11. „	Durchfall, Erbrechen	Appetit vorhanden, Durchfall	Appetit vorhanden, etwas Durchfall	„
12. „	„	„	„	„
13. „	„	„	fester Stuhl	„
14. „	dünner Stuhl, sonst nicht krank	fester Stuhl	„	„
15. „	Gew. 14200 grm (Versuch unterbrochen)	7920 grm	5800 grm	„

Tabelle VI.

Kaninchen.

Datum	Kaninchen I 0·3 grm tägl.	Kaninchen II 0·5 grm tägl.	Kaninchen III 1·0 grm tägl.
7. Novbr.	850 grm	785 grm	760 grm
10. „	800 „	735 „	730 „
15. „	755 „	640 „	625 „
	24. XII. †	20. XI. †	22. XI. lebt (Vers. unterbrochen)

Tabelle VII.

Meerschweinchen.

Datum	Meerschweinchen I 0·3 grm tägl.	Meerschweinchen II 0·5 grm tägl.	Meerschweinchen III 1·0 grm tägl.
7. Novbr.	257 grm	160 grm	255 grm
10. „	250 „	150 „	220 „
15. „	188 „	14. Novbr. †. 147 grm	194 „
22. „	235 „		245 „
30. „	217 „		240 „
4. Decbr.	221 „ lebt (Versuch unterbrochen)		4. Decbr †. 197 grm

Tabelle VIII.
Katzen.

Katze	Beginn der Fütterung	Täglich verabreichte Dosis Borsäure	Tage, an denen das borsäurehaltige Futter genommen wurde	Gewicht vor Verabreichung der Borsäure	Gewicht nach Verabreichung der Borsäure	Beobachtungen während des Versuches	Tod am
	1900		1900	grm			1900
1	7. XI.	0·1 grm Bors. in 100 ccm Milch, bez. in Fleisch	7.— 9. XI. 12.—14. „ 16. „ 23.XI.—5.XII.	635	22. XI 600	vom 9. XI. ab dünner Stuhl u. Erbrechen; Fresslust vermindert, Borsäure-Milch mehrfach nicht angerührt.	6. XII.
2	„	„	7.—13. XI.	665	15. XI. 565	vom 9. XI. ab dünner Stuhl u. Erbrechen, frisst bis zum 13. XI. das Vorgesetzte auf.	15. XI.
3	„	„	7.—13. XI. 18.—24. „	700	24. XI. 513	vom 9. XI. ab dünner Stuhl u. Erbrechen. Rührt vom 13. bis 18. XI. die Borsäure-Milch nicht an.	24. „
4	„	„	7.— 8. XI. 12.—14. „	620	15. XI. 507	vom 9. XI. ab dünner Stuhl u. Erbrechen, zeigt seit dem 9. XI. Widerwillen gegen Borsäure-Milch, vom 12. XI. ab Borsäure-Fleisch.	16. „
5	„	„	7.—8. XI. 10. „ 12.—14. „	780	19. XI. 490	vom 9. XI. ab dünner Stuhl, Erbrechen, miaut viel und ist 15. XI. sichtlich krank; seitdem keine Borsäure mehr, erholt sich aber nicht wieder.	19. „
6	„	„	7.—9. XI.	860	10. XI. 275	am 9. XI. Erbrechen, Stuhl dünn.	10. „
7	„	„	7.—9. „	360	10. XI. 300	desgl.	10. „
8	„	„	7.—10. XI. 12. „ 15.—17. „	500	18. XI. 320	Stuhl dünn, zeitweise Erbr. 13. XI. sehr krank, erhält statt Milch Fleisch, das lieber genommen wird.	18. „
9	„	„	7.— 9. XI. 14.—15. „ 22. XI.- 9. XII.	490	22. XI. 465	zeitweise seit dem 9. XI. Erbrechen und dünner Stuhl, sehr krank am 15. XI., erholt sich dann etwas nach Aussetzen der Bors. bis 22. XI.	9. XII.
10	„	„	7.— 9. XI. 12.—14. „ 16. „	825	18. XI. 502	frisst sehr wenig, wenn Borsäure im Futter (Milch oder Fleisch).	18. XI.
11	22. XI.	0·045 grm Borsäure in 100 ccm Milch	22. XI.-7. XII.	690	4. XII. 625	Die Katzen magern ab trotz ausreichenden Futters. Die Milch wird ohne Sträuben genommen.	8. XII.
12	„	„	22. XI. -3. XII.	500	4. XII. 420		4. „

Tabelle VIII. (Fortsetzung.

Katze	Beginn der Fütterung	Täglich verabreichte Dosis Borsäure	Tage, an denen das borsäurehaltige Futter genommen wurde	Gewicht vor Verabreichung der Borsäure	Gewicht nach Verabreichung der Borsäure	Beobachtungen während des Versuches	Tod am
	1900			grm			
13	14. XII.	0·05 grm Borsäure in Fleisch	14. XII. – 4. I. 1901	760	5. I. 550	Die Katzen zeigen keine besonderen Krankheitserscheinungen. Abmagerung	I. I. 01.
14	„	„	14.—23. XII.	560	24. XII. 460		24. XII. 1900
15	„	„	14.—26. XII.	600	26. XII. 540		26. XII.
16	17. XII.	0·1 grm Borsäure in Fleisch	17. XII.—3. I. 1901	—	—	ältere Thiere! Zeitweise dünner Stuhl, Abmagerung.	4. I. 01.
17	„	„	17. XII.—3. I.	—	—		22. I.
18	27. XII.	0·05 grm Borsäure in Fleisch	27. XII.—4. I.	380	5. I. 260	keine besonderen Krankheitserscheinungen, Abmagerung.	5. I.
19	„	„	27. XII.—4. I.	375	5. I. 280		5. I.

hatte, das zweite (Huhn V) starb nach fünfmaliger Verfütterung von $^1/_2$ grm. Das letzte Thier erkrankte schon nach einmaliger Dosis von $^1/_2$ grm und wurde getödtet; es war Borsäure in der Leber und Niere nachweisbar, makroskopisch wurden keine nennenswerthen Veränderungen der Organe constatirt.

Kaninchen und Meerschweinchen zeigten eine deutliche Abnahme der Fresslust nach Verabfolgung von Borsäure, rührten ihr Futter manchmal gar nicht an, nahmen mehr oder weniger an Gewicht ab und gingen zum Theil auch ein.

Durch die an jungen Katzen angestellten Versuche wurde die Behauptung Annetts bestätigt, dahingehend, dass diese Thiere nach Verfütterung grosser Mengen, 1 grm pro die unter Erbrechen und Durchfall eingingen. Aber auch bei Einverleibung kleinerer Mengen, wie sie Liebreich fordert, gingen die Thiere unter den Erscheinungen hochgradiger Inanition zu Grunde. Es mag noch bemerkt sein, dass die Katzen fast ausnahmslos einen unverkennbaren Widerwillen gegen borsäurehaltiges Futter, besonders borsäurehaltige Milch, zeigten.

Man pflegt auf Grund derartiger Befunde im Thierversuch bei anderen Substanzen Rückschlüsse auf die Wirkung letzterer gegenüber dem menschlichen Organismus zu machen, und so könnten uns auch diese Resultate

Grund geben, zu einem directen Schluss auf die Gesundheitsschädlichkeit der Borsäure für den Menschen.

Selbst denjenigen aber, welche solche Schlussfolgerungen nicht zulassen wollen, dürften die Ergebnisse der oben mitgetheilten Versuche hinreichend Grund bieten, mit Behauptungen der gänzlichen Unschädlichkeit der Borsäure zurückzuhalten.

Es ist nach dem Ausfall der Thierversuche — die Annahme einer Idiosynkrasie aller Versuchspersonen und Versuchsthiere dürfte jeder Unterlage entbehren — die Borsäure durchaus nicht als unschädlich zu bezeichnen, geschweige als nützlich für den Organismus hinzustellen; man muss doch unterscheiden zwischen den Eigenschaften, die man von einer Medicin verlangt und den Anforderungen, die man an ein Nahrungsmittel stellt.

Die beliebte Entgegnung gegen unsere Auffassung, dass keine beweisenden Fälle von Gesundheitsschädigung nach Genuss borsäurehaltiger Nahrungsmittel bekannt geworden wären, können wir aus allgemein verständlichen Gründen nicht gelten lassen. Die Gesundheitsschädigungen, wie sie hier in Frage kommen, jedesmal auf ihren Ursprung zurückzuführen, liegt für den praktischen Arzt ganz ausser dem Bereich der Möglichkeit, namentlich wenn es sich um kränkliche oder schwächliche Individuen handelt, die an und für sich schon zu Verdauungsstörungen neigen. Wenn auch zugegeben sei, dass manche, vielleicht zahlreiche Personen grosse Dosen Borsäure ohne sichtbare Schädigungen vertragen werden, so kann dieses Moment doch nicht für die Beurtheilung der Borsäure in gesundheitlicher Beziehung in's Feld geführt werden, wenn nachweislich bei anderen Personen schon geringere Dosen Störungen herbeiführen.

Die Thatsache, dass zur Zeit allen möglichen, der Verderbniss ausgesetzten Nahrungsmitteln chemische Conservirungsmittel zugesetzt werden, und der Umstand, dass es demnach völlig uncontrolirbar ist, wie grosse Mengen verschiedenartiger chemischer Conservirungsmittel wir zur Zeit täglich in unseren Nahrungsmitteln aufnehmen, lässt uns im Hinblick auf die oben nachgewiesenen thatsächlichen Gesundheitsschädlichkeit der Borsäure einen Erlass von gesetzlichen bezw. ortsstatutarischen Bestimmungen, durch welche ein Verbot des Zusatzes von Borsäure und ähnlichen chemischen Conservirungsmitteln zu unseren Nahrungsmitteln ausgedrückt wird, als eine dringende Nothwendigkeit erscheinen.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Annet, *Lancet.* 1899. p. 1282.
2. Chittenden und Gies, *American Journal of Physiology.* 1898. Vol. I.
3. Filsinger, *Zeitschrift für öffentl. Chemie.* 1898. S. 127.
4. Forster, *Archiv für Hygiene.* Bd. II.
5. Gruber, *Zeitschrift für öffentl. Chemie.* 1900. S. 77.
6. Heinze, *Chem. Zeitung.* Repert. 1899.
7. Jules und Stoke, *Revue intern. des fals.* Bd. VI. Ref. *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene.* 1894.
8. Kayser, *Zeitschrift für öffentl. Chemie.* 1899. S. 431—434.
9. Kühnau, *Berliner thierärztl. Wochenschrift.* 1900. Nr. 32.
10. Lazerus, *Diese Zeitschrift.* Bd. VIII.
11. Leffmann, *Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- u. Genussmittel.* 1899. S. 894.
12. Liebreich, *Vierteljahrsschrift für gerichtl. Medicin und öffentl. Sanitätswesen.* 1900. Bd. XIX. S. 83.
13. Derselbe, *Zeitschrift für öffentl. Chemie.* 1899. 5. S. 492—496.
14. Neumann, *Archiv für experim. Pathologie und Pharmakologie.* 1881.
15. Petterson, *Archiv für Hygiene.* Bd. XXXVII.
16. Polenske, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1900. Bd. XVII.
17. G. Popp und C. Fresenius, *Zeitschrift für öffentl. Chemie.* 1897. S. 155.
18. Robinson, *Public Health.* Aug. 1899.
19. Rochard, *L'Union méd.* 1893. Nr. 13 u. 18. — Ref. *Hygien. Rundschau.* 1894.
20. X. internationaler Congress für Hygiene und Demographie zu Paris. *Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentl. Gesundheitspflege.* 1900. Bd. XXXII. S. 697.



[Mittheilungen aus dem hauptstädtischen bakteriologischen Institute zu Budapest.]

Ueber die Infectionsfähigkeit und Desinfection von gebrauchten Büchern.

Von

Dr. **Arthur Krausz,**
Adjunct des Institutes.

Es gibt kaum ein Object, welches in so viele Hände gelangt, als das Buch. Das Papier kommt aus der Fabrik in die Druckerei, die bedruckten Bogen zum Buchbinder, dieser liefert das fertige Buch zum Verleger, und nun erst kommt es zum Käufer. Bei diesem beendet das Buch jedoch noch nicht sein bewegtes Dasein, denn nur wenige Käufer legen das ein Mal gelesene Buch in ihren Bücherschrank, um es eventuell wieder daraus hervorzuholen, wenn dasselbe ihnen Vergnügen bereitet; viele verleihen es Litteraturfreunden, die ihren Durst mit der Lectüre geliehener Bücher stillen; freilich stellen jene dann oft das ihnen anvertraute Gut nicht dem Eigenthümer zurück, sondern verleihen es weiter, oder, was doch auch nicht ausgeschlossen ist, sie vertrauen es der Obhut des Antiquars, und von hier aus beginnt das Buch wieder eine neue Laufbahn.

Ein anderer Modus, zu Büchern zu gelangen, ist der des Ausleihens — aber gegen Bezahlung. Das ist die Institution der Leihbibliotheken. Hier wandert das Buch auch von Hand zu Hand, um endlich Ruhe zu finden, wenn der Autor aus der Mode gekommen ist.

Eine dritte Art der Bücherwanderung ist die, dass oft schon beim Ankaufe nicht der Käufer selbst, sondern der Benützer des Buches kaum den Tag erwartet, wo er das Buch in eine neue, aber ebenso unsichere Hand legen kann. Das ist das Loos der meisten Schulbücher.

Es ist daher nicht Wunder zu nehmen, wenn man auf den Gedanken kam, dass das Buch, welches so viele Hände passirt, auch inficiren kann; hauptsächlich aber besteht diese Gefahr bei den Schulbüchern, weil doch die meisten Infectionskrankheiten bei den Schulkindern herrschen.

Auf diese Gefahr machte das Syndicat der ungarischen Buchhändler aufmerksam und erbat vom Landesverein für Hygiene ein Gutachten, um auf Grund dessen die gebrauchten Schulbücher eventuell ganz aus dem Verkehre — durch die Behörde — verbieten zu lassen.

Der Landesverein für Hygiene betraute mich mit dem Studium der Frage um Unterbreitung eventueller Vorschläge, über die ich im Folgenden auf experimenteller Grundlage berichte.

Ob die gebrauchten Bücher überhaupt inficiren können, darüber musste ich mich durch Versuche vergewissern, denn in der Litteratur fand ich darüber nur zwei Aufzeichnungen. Die eine theilt die Zeitschrift für Gesundheitspflege (1900 Nr. I.) mit: Im Gesundheitsamte des Staates Michigan erkrankten 20 Beamte an Tuberculose und starben auch an dieser Krankheit. Dieselben waren mit der Revidirung der Aufzeichnungen betraut. Die Bücher wurden untersucht, und man fand, dass diese mit Tuberkelbacillen so zu sagen imprägnirt waren. Man nahm an, dass ein mit Tuberculose behafteter Beamter die Bücher dadurch inficirte, dass er mit seinen mit Mundspeichel benässten Fingern darin blätterte. Ganz ähnlich ist die Mittheilung eines russischen Blattes. In einem Petersburger Staatsamte wurden zu ein und derselben Zeit mehrere Beamte tuberculös. Die Untersuchung der dort geführten Bücher ergab dieselben Resultate wie in Michigan.

Meine Experimente machte ich a) mit reinem in die Druckerei gelangten Papier, b) mit bedruckten Bogen, c) mit zusammengefalteten, zum Heften fertiggestellten Bogen, d) mit gehefteten bezw. gebundenen neuen Büchern, e) mit gebrauchten Schulbüchern, Büchern aus Leihbibliotheken, die zwar nicht lange aus dem Verkehr gesetzt, aber ziemlich abgenützt waren.

Von den eben aufgezählten Papiergattungen schnitt ich schmale Streifen ab, und eben solche Streifen entnahm ich von solchen Bücherstellen, wo der Leser mit den benässten Fingern blättert. Diese Streifen brachte ich unter aseptischen Cautelen theils in die Bauchwand, theils in die Bauchhöhle von Meerschweinchen. Von elf auf diese Art operirten Thieren verendeten drei und zwar jene, welchen Streifen aus Büchern von Leihbibliotheken und aus stark abgenutzten Büchern eingenäht wurden, im Verlaufe von 48, 51 bezw. 63 Stunden. Bei der Section fand ich Peri-



tonitis purulenta, welche aber nicht von der Bauchwunde ausging. Die Thiere, denen Papierstreifen aus neuen Büchern oder aus zum Binden fertiggestellten Bogen eingebracht wurden, blieben alle gesund.

In der zweiten Reihe meiner Versuche schnitt ich ebensolche Streifen von denselben Blättern ab, brachte sie jedoch in Nährbouillon, die dann auf 24 Stunden in den Brütofen gebracht wurden. Die von den obengenannten Bogen und von neuen Büchern abgeschnittenen Streifen trübten die Bouillon kaum oder gar nicht, hingegen trübten die Streifen der alten Bücher dieselbe stark.

Von diesen Nährbouillons habe ich 14 Meerschweinchen je 1 ccm in die Bauchhöhle injicirt. Das Ergebniss ist gleich dem in der ersten Versuchsreihe gefundenen. Hier verendeten 4 Thiere in Folge von septischer Peritonitis, die Bouillon stammte in allen 4 Fällen aus stark abgenutzten Büchern entnommenen Streifen. Durch diese Versuche glaube ich bewiesen zu haben, dass auf den Blättern der gebrauchten Bücher Mikroorganismen abgelagert sind, welche unter günstigen Verhältnissen auch infectionsfähig sind.

Nachdem ich die Versuche mit neuen Büchern, aber nie mit ein und denselben, noch öfters auf die oben beschriebene Art wiederholt hatte, und die Thiere absolut nicht oder kaum reagirten, musste ich annehmen, dass solche Bücher unter normalen Verhältnissen nicht inficirt sind, und konnte dieselben bei den weiteren Versuchen auch ausser Acht lassen.

In der dritten Versuchsreihe benutzte ich daher nur bereits gebrauchte und abgenutzte Bücher, und zwar waren dies dieselben, welche ich schon in der Versuchsreihe I und II benutzt hatte. Sie wurden in die Autoclave gebracht und 1 Stunde lang bei 2 bis $2^1/_2$ Atmosphäre gehalten. Nach dieser Zeit wurden sie herausgenommen und mit der ausgeglühten Scheere Streifen aus ihnen geschnitten. Die Streifen brachte ich sofort in Bouillon, bezw. in die Bauchhöhle von Meerschweinchen. Die Bouillon trübte sich nicht, und auch die Thiere reagirten auf keine Weise.

Durch diese Versuche wurde es klar, dass auf den Blättern der gebrauchten Bücher abgelagerte Mikroorganismen durch den strömenden Dampf vernichtet werden.

Nun musste noch erforscht werden, auf welchem Wege die Mikroorganismen, hauptsächlich aber eventuell die unter ihnen befindlichen pathogenen, dahin kommen.

Es kann nicht geleugnet werden, dass die Bücher, so auch die Schulbücher, sehr oft in die Hände reconvalescenter Patienten kommen. Im Rachen reconvalescenter Diphtheriekranker, die scheinbar gesund sind, kann man z. B. noch nach 40 bis 50 Tagen virulente Löffler-Bacillen nach-



weisen, die mit einem Hustenanfalle auf die Blätter des Buches gelangen und dort noch 3 bis 4 Monate lebensfähig bleiben können.

Aber nicht nur der Kranke selbst, sondern auch dessen Umgebung ist infectionsfähig. Kober hat in der Umgebung der Kranken in 128 untersuchten Fällen, in der Mundhöhle in 5 Fällen ohne Zweifel den Diphtheriebacillus nachgewiesen. Von 600 gesunden Kindern, die mit Diphtheriekranken in gar keine Berührung kamen, konnte er im Rachenraum bei 15 den Löffler'schen Bacillus nachweisen, in 5 Fällen waren auch die Thierversuche positiv. Auf diese Weise kann nicht nur das Buch in den Händen des Kranken, sondern auch das seiner Umgebung für den neuen Besitzer Gefahr bringen.

Nicht weniger gefährlich — ja man könnte sogar sagen gemeingefährlich — sind die Bücher der Leihbibliotheken. Wohl bekannt ist die Thatsache, dass Kranke zumeist aus dieser Quelle ihre Bücher beziehen. und abgesehen von der allgemeinen Gewohnheit, dass beinahe jeder mit dem mit Mundspeichel benässten Finger blättert und so die eventuellen Infectionskeime der Mundhöhle mit dem Speichel überträgt, giebt es noch eine zweite ebenso gefährliche Infectionsübertragung. Jeder der beim Lesen einen Hustenanfall bekommt, hält das Buch vor seinen Mund. In einem solchen Falle können mit dem verspritzten Mundspeichel nicht nur unschädliche, sondern auch schädliche Mikroorganismen, wenn solche im Munde des Lesers enthalten waren, auf das Blatt kommen, z. B. wie schon erwähnt, Diphtherie- oder Tuberkelbacillen; denn wohlbekanntlich sind die Tuberkelbacillen nicht nur im Sputum von Tuberculösen, sondern auch in ihrem Mundspeichel enthalten, wo sie beim Aushusten des Sputums zurückgeblieben sind. Ueber die Gegenwart des Tuberkelbacillus im Mundspeichel überzeugte ich mich auf die Weise, dass ich Tuberculöse, in deren Sputum viel Bacillen nachweisbar waren, nach einem kräftigen, mit starker Expectoration verbundenen Hustenanfall, spontan husten liess und dann den so verspritzten Mundspeichel auf einen Objectträger auffing. In vielen Fällen gelang es, im gefärbten Präparate den Tuberkelbacillus nachzuweisen; und wie in diesen Fällen auf den Objectträger, so gelangt beim Lesen der Bacillus anlässlich eines Hustenanfalles auch auf das Blatt des Buches.

Gesetzt den Fall, dass während des Hustenanfalles Tuberkelbacillen auf das Blatt des Buches gelangen, so können dort eingetrocknete Bacillen unter günstigen Verhältnissen 70 bis 80 Tage ihre Lebensfähigkeit behalten. Gelangt das Buch dann zu einem neuen Besitzer, der die Gewohnheit hat, mit den angespeichelten Fingern zu blättern, so kann sich dieser inficiren.

Es besteht jedoch noch eine andere Möglichkeit der Infection. Die meisten Leser pflegen nämlich bei der Beendigung der Lectüre das Buch



zuzuschlagen, und bei dieser Gelegenheit athmen sie unwillkürlich den Staub, und zugleich die mit demselben freigewordenen Bacillen ein. Und ein solcher Staub kann, im Falle er Tuberkelbacillen enthält, — nach Sticher's Experimenten — Tuberculose erzeugen.

Auch muss man in Betracht ziehen, dass der Leser das ausgeliehene Buch nicht so hoch schätzt wie sein eigenes, er legt es überall hin, so dass auch auf diese Art event. Infectionsstoff darauf gelangen kann.

Im Vorhergehenden habe ich in Kürze auf den Modus der Infection der gebrauchten Bücher hingewiesen, nun kann ich auf die Beantwortung der Frage übergehen, wie dieselben desinficirbar sind, ohne dass sie grösseren Schaden erleiden.

Wenn ich den letzteren Standpunkt in's Auge fasse — und in Betracht gezogen, dass die gebrauchten Bücher, die wieder in den Verkehr kommen sollen, ein riesiges Kapital repräsentiren, musste ich dies thun[1] —, durfte ich nur auf Dampfdesinfection denken, und zwar hatte ich die Wahl zwischen dem strömenden Dampf und den Formalindämpfen.

In Flüssigkeiten — Carbol, Sublimatlösung — geht das Buch natürlicherweise zu Grunde. Chlordämpfe konnten in diesem Falle darum nicht in Betracht kommen, weil sie viel Papiersorten zersetzen und den Druck unleserlich machen, was ich auch bei Experimenten mit Schwefeldämpfen beobachtete. Pictet's Gasgemisch, mit welchem Schab die Desinfection der Bücher versuchte, ergab kein brauchbares Resultat.

Formalindämpfe entwickelte ich aus Pastillen in dem einfachen und combinirten Schering'schen Apparate, dann aus Glykoformal im Lingner'schen Apparate. Endlich erprobte ich auch die Trillat'sche „Autoclave formogène", welche die Dämpfe aus Formochlorol entwickelt. Diese Experimente machte ich nicht nur speciell mit Büchern, sondern zugleich auch im Allgemeinen, um über die Wirkung der Formalindesinfection, ihre Kosten und über die Einführung in die Desinfectionspraxis des hiesigen Instituts für Desinfection ein Gutachten abzugeben und Vorschläge machen zu können. Ueber die Resultate gedenke ich ein andermal zu berichten und referire daher jetzt nur in Kürze über die experimentellen Ergebnisse mit Büchern.

Setzte ich die auf die unten angegebene Art präparirten Bücher Formalindämpfen aus — die Bücher waren auf einander geschichtet —, so

[1] Nach Zusammenstellung des Doc. Gerlóczy hatten von den Schülern der Realschule des IV. bezw. VIII. Bezirkes 20·6 bezw. 18·1 Procent nur neue, 27 bezw. 26·8 Procent nur alte und 52·4 bezw. 55·1 Procent gemischte Bücher. In der Mädchen-Bürgerschule des VIII. Bezirkes hatten 18·5 Procent der Schülerinnen nur neue, 47·4 Procent nur alte und 34·1 Procent gemischt neue und antiquarische Bücher (Daten des Dr. Aujeszky). Und ungefähr ebenso stellen sich die Zahlen in den übrigen Schulen der Hauptstadt.



wurden die Mikroorganismen nur auf der Buchoberfläche vernichtet. Hängte ich aber die Bücher auf und nahm ich dieselben zwischen Klammern, so dass die Blätter lose waren, so erreichte ich sehr zufriedenstellende Erfolge mit jedem der oben angeführten Apparate, aber gleichförmig, prompt, verlässlich und am billigsten arbeitete jedes Mal das Lingner'sche.

Mit strömendem Wasserdampfe machte ich meine Experimente in der hiesigen Desinfectionsanstalt, welche unter der bewährten Leitung von Dr. Georg Bukovszky steht, auch wurden die nach seinem Systeme gebauten Maschinen benutzt, die den Vortheil haben, dass der Dampf sich nicht niederschlägt, also kein Condenswasser erzeugt, sondern gleichmässig strömt und vertheilt wird.

Die Anordnung der Experimente war folgende: Eins der Blätter, ungefähr in der Mitte des Buches oder Heftes — bei diesem auch das Umschlageblatt — wurde mit Bouillonculturen von Staphylokokken, Diphtherie, Anthrax, Cholera und Typhus, sowie mit reichlich Tuberkelbacillen enthaltendem Sputum bestrichen. Nun wurde abgewartet, bis diese Blätter trockneten, und dann wurden sie in die Desinfectionsmaschine gebracht, dort über einander geschichtet und oben darauf ein Brett gelegt, damit dieselben unter Druck seien.

Vor Beginn der Desinfection wurde jedes Mal von den bestrichenen Seiten ein kleiner Streifen in sterile Bouillon gebracht, damit ich mich von der Lebensfähigkeit des betreffenden Mikroorganismus überzeugen konnte, und nur diejenigen Experimente wurden in Betracht gezogen, wo diese Controlversuche positiv ausfielen. Aus dem mit Sputum bestrichenen Blatte wurde ein Streifen in die Peritonealhöhle eines Meerschweinchens eingenäht, dieses verendete an Miliartuberculose.

In der ersten Reihe der Versuche waren die Bücher 15 Minuten dem strömenden Dampfe ausgesetzt. Diese Zeit erwies sich als ungenügend, denn die sterilen Mikroorganismen blieben lebensfähig, mit Ausnahme des Choleravibrio.

Auch 20 Minuten erwiesen sich als ungenügend, daher wartete ich in der dritten Versuchsreihe 40 Minuten, wovon 30 Minuten auf die eigentliche Desinfection kamen, 5 Minuten wurden auf die Vorerwärmung und 5 Minuten auf die Luftleermachung der Maschine verwendet.

Diese Zeit erwies sich zur Vernichtung der Mikroorganismen jedes Mal als genügend. Die Experimente wurden fünf Mal wiederholt, immer unter der freundlichen Mitwirkung des Directors Bukovszky, dem ich dafür hier besten Dank sage.

Die nach der Desinfection den inficirten Blättern entnommenen Streifen trübten die Bouillon nie, auch blieben die von dieser Bouillon gegossenen Platten steril. Die Controlthiere blieben am Leben.

Was den Zustand der Bücher nach der Desinfection anbelangt, so zeigten die gehefteten Bücher gar keine Veränderung. Die cartonirten waren etwas gebogen, was aber durch Pressung leicht auszugleichen war. Die halbleinen gebundenen Bücher waren ebenfalls krummgebogen, auch bildete das Papier des Einbandes Blasen, oder es löste sich theilweise los. Die Leinwandeinbände bildeten Blasen; nur die Ledereinbände litten sehr unter der Desinfection. Das sind aber zum Vortheile der Desinfection so kleine Schäden und geringe Verluste, dass man sich leicht darüber hinwegsetzen kann, denn bei Schulbüchern und Leihbibliotheksbüchern — um diese handelt es sich ja hauptsächlich — kommen theuere Luxuseinbände nicht vor, sondern zumeist Leineneinbände, die doch beinahe gar keinen Schaden erleiden.

In der letzten Reihe der Experimente musste darüber entschieden werden, ob überhaupt die Desinfection nöthig ist, d. h. ob die auf die Blätter des Buches gekommenen Mikroorganismen eventuell so schnell zu Grunde gehen, dass von der Desinfection ganz abgesehen werden kann.

Viele Forscher haben Experimente nach der Richtung hin gemacht, wie lange die pathogenen Arten ihre Lebensfähigkeit behalten; aber abgesehen davon, dass diese Experimente unter verschiedenen Umständen und auf verschiedenen Materien vollführt wurden, bewegten sich die Zeitergebnisse dieser Experimente unter so weiten Grenzen, dass ich zur Beantwortung dieser Frage neue Versuche anstellen musste.

Zur Illustration der gefundenen weiten Grenzwerthe möchte ich einige Beispiele anführen. Der Choleravibrio behält, der Eintrocknung an der Luft ausgesetzt, seine Lebensfähigkeit 3 Stunden, Maximum seiner Lebensfähigkeit sind 5 Tage. Resistenter ist der Typhusbacillus, er verträgt 227 Tage die Eintrocknung, weniger resistent ist der Diphtheriebacillus, denn er lebt 150 Tage. Das gefundene Minimum ist für Typhusbacillus 1 Tag, für Diphtherie 4 Tage.

Zwischen diesen angegebenen Minimal- und Maximalzahlen finden wir die weitgehendsten Schwankungen, je nach den Materien (z. B. Glas, Sand, Leinen) und je nach der Temperatur, bei welcher die Eintrocknungsexperimente vorgenommen wurden; natürlich spielte auch eine grosse Rolle, auf welchem Nährboden die betreffende Art gezüchtet wurde, wie alt die Cultur war, und wie viel von derselben entnommen wurde.

In meinem Falle war die Materie des Experimentes gegeben, nämlich das Papier, und zwar benutzte ich das Papier sterilisirter Bücher, auch nahm ich immer Culturen gleichen Alters, nämlich 48stündige Gelatineculturen oben genannter Mikroorganismen, und immer gleiche Mengen, nämlich 5 Oesen voll, die ich auf $^1/_2$ ^{qcm} Fläche möglichst gleichmässig



zu verstreichen mich bemühte. Auch achtete ich darauf, dass ich von dem Nährboden nicht auf das Papier übertrage.

Die auf diese Weise inficirten Bücher wurden bei einer gleichmässigen Zimmertemperatur um 18° C. auf eine Stellage neben einander gestellt und vor Licht geschützt.

Den ersten Tag machte ich 12stündlich die Controlversuche und zwar auf die Weise, dass ich $^1/_2$ qcm grosse Papierstückchen ausschnitt und in Nährbouillon brachte, bezw. die mit dem tuberculösen Sputum inficirten in die Bauchhöhle von Meerschweinchen einnähte; alsdann wurden die Controlversuche alle 24 Stunden wiederholt.

Das Ergebniss war folgendes: Am frühesten verlor der Choleravibrio seine Lebensfähigkeit und zwar nach 48 Stunden. Viel später der Diphtheriebacillus, nämlich in 28 Tagen (in einem Falle aber schon in 4 Tagen), der Staphylococcus lebte 31 Tage, der Typhusbacillus behielt in einem Falle 95 Tage seine Lebensfähigkeit, aber er ging gewöhnlich in 40 bis 50 Tagen zu Grunde. Das mit Sputum inficirte Papierstückchen wurde in einem Falle nach 103 Tagen in die Bauchhöhle des Thieres eingenäht, dieses verstarb nach langem Siechthum, während welchem fortwährend Temperaturerhöhungen beobachtet wurden, die Section ergab aber ein negatives Resultat. Zur Controle wurden von sämmtlichen Bouillonculturen Gelatineplatten angelegt, die stets den betreffenden Bacillus lieferten.

Das Resultat der angestellten Versuche kann ich im Folgenden zusammenfassen:

In gebrauchten Büchern können Infectionsstoffe sein, welche unter günstigen Verhältnissen auch infectionsfähig sind; aber durch zweckmässige Desinfection, welche dem Buche keinen erheblichen Schaden zufügt, kann die Infection verhütet werden. Die Desinfection ist für Bücher im strömenden Wasserdampfe binnen 30 bezw. 40 Minuten ganz sicher durchzuführen.

Für die Praxis glaube ich daher folgende Sätze aufstellen zu können:

Für den Fall, dass die Lehrbücher nur am Ende des Schuljahres Gegenstand des Kaufes und des Verkaufes bilden würden, besteht die Nothwendigkeit der Desinfection nicht; denn die Ferien dauern so lange bezw. länger, als die Lebensfähigkeit der inficirenden Bacillen auf den Bücherblättern. Natürlich dürfte man nicht erlauben, dass während des Schuljahres oder über den Beginn der Ferien hinaus Schulbücher verkauft würden.

In der Hauptstadt und überall sonst, wo dies möglich ist, müssten die Schulbücher von Schülern, die eine Infectionskrankheit überstanden haben, obligatorisch desinficirt werden, und die Desinfectionsanstalt ihrerseits sollte auf den Bücherumschlägen die durchgeführte Desinfection



deutlich und leicht sichtbar verzeichnen. Zu wünschen wäre die facultative Desinfection, durch diese Maassregel würde erreicht, dass die meisten Antiquarien die Bücher desinficiren liessen, und die Eltern würden gewiss im Interesse ihrer Kinder nur solche Bücher kaufen, auf denen die geschehene Desinfection verzeichnet ist. Die Desinfectionsanstalten würden diese Arbeitsvermehrung, die sich ja jährlich ein Mal nur auf eine bestimmte Zeit erstreckt, leicht bewältigen können. Nach meiner bescheidenen Meinung kann man Niemanden der Möglichkeit berauben — vorausgesetzt, dass es nicht mit einer eminenten Gefahr einhergeht —, die ohnehin theueren Schulbücher billiger sich verschaffen zu können.

Indess muss die Desinfection der Bücher von Leihbibliotheken obligatorisch gefordert werden, da diese innerhalb sehr kurzer Zeit ihre Leser wechseln — unter 3 bis 4 Tagen auch 2 Mal — und gewiss gelangen sie sehr häufig von den Händen kranker oder reconvalescenter in die gesunder Menschen.

Mit verhältnissmässig geringen Kosten könnte jede Leihbibliothek die von mir construirten Autoclave zur Desinfection der Bücher sich anschaffen, dessen Function bezw. Instandhaltung von Zeit zu Zeit die Behörde controliren würde.

Ich bin überzeugt, dass das Publikum sehr bald die grosse Wichtigkeit dieser Institution einsehen und sich nicht mit der Aussage des Eigenthümers begnügen würde, dass die Bücher bereits desinficirt sind, sondern in jedem Falle die Desinfection in seiner Gegenwart verlangen wird.



[Aus dem Laboratorium für medicinische Bakteriologie der Universität Kopenhagen.]

Ueber Immunisirung mit den Toxonen des Diphtheriegiftes.[1]

Von

Georges Dreyer und **Thorvald Madsen.**

Wenn man Diphtheriegift mit Diphtherieantitoxin mischt, sieht man im Thierversuch, dass die Wirkung dieses Gemisches vor allem von dem Verhältniss der beiden genannten Bestandtheile abhängt. Dies tritt z. B. hervor, wenn man Mischungen untersucht, die stets dieselbe Menge Diphtheriegift und wechselnde Mengen Diphtherieantitoxin enthalten. Als Constante des Giftes wählt man zu den Versuchen am besten diejenige Menge, die von Ehrlich als Lo bezeichnet worden ist, und die der Definition entsprechend von einer Immunitätseinheit des Antitoxins gerade neutralisiert wird.[2] Diese Lo-dosis enthält bekanntlich ein hohes Multiplum der tödlichen Minimaldosis des Giftes. Vermindert man die der Lo-Dosis des Giftes zugefügte Antitoxinmenge, so kann die letztere — je nach den verschiedenen Giften — auf $^7/_8$ bis $^1/_2$ Immunitätseinheit herabgesetzt werden, bevor eine dem reinen Diphtheriegifte entsprechende Wirkung des Gemisches wahrzunehmen ist. Bis man diesen Punkt erreicht, hat die Mischung zwar toxische, aber ganz andersartige Eigenschaften als das Diphtheriegift.

Diphteriegift ohne Antitoxinzusatz tödtet in bestimmten Gaben Meerschweinchen im Laufe von wenigen Tagen mit typischen pathologisch-anatomischen Läsionen; in kleineren Gaben ruft es eine ausgedehnte Infil-

[1] Verkürzt mitgetheilt auf dem XIII. intern. med. Congress.

[2] Ehrlich, Die Werthbemessung des Diphtherieheilserums. *Klin. Jahrb.* 1897.



tration hervor, die von Necrose und Haarausfall gefolgt wird. Ein Giftantitoxingemisch jedoch mit einem kleinen Giftüberschuss hat selbst in sehr grossen Mengen nicht die Fähigkeit, Versuchsthiere acut zu tödten. Das durch ein solches Gemisch verursachte Infiltrat ist klein und weich und verschwindet spurlos. Die charakteristische Giftwirkung der Mischung besteht in dem constanten Auftreten von Paresen nach einer bestimmten, mehrere Wochen währenden Latenzzeit[1].

Diese Eigenthümlichkeiten erklärt Ehrlich[2] dadurch, dass das Diphtheriegift ein complicirter Körper ist, aus zwei wesentlich verschiedenen Bestandtheilen bestehend. Der eine, das Toxin, hat die stärkere Affinität zum Antikörper und wird deswegen zuerst von diesem gebunden; es besitzt die obengenannte Eigenschaft acut zu tödten, die bei der Anwendung reinen Diphtheriegiftes zur Geltung kommt. Dem anderen Körper, dem Toxon, kommt eine viel geringere Affinität zum Antikörper als dem Toxon zu, und er wird daher erst dann vom Antitoxin neutralisirt, wenn alles Toxin gebunden ist. Seine giftigen Eigenschaften sind von der oben geschilderten, von der des Toxins abweichenden Art.

Die Verschiedenheit der toxischen Wirkung einerseits, das wesentlich gleichartige und nur nach dem Affinitätsgrad verschiedene Verhalten andererseits findet die einfachste Erklärung in der Annahme Ehrlich's, dass die Moleküle des Toxins und Toxons die gleichen haptophoren, jedoch verschiedene toxophore Gruppen besitzen.

Nehmen wir im Sinne der bekannten Seitenkettentheorie Ehrlich's an, dass es dieselben haptophoren Gruppen des Giftmolecüls sind, die von dem Antitoxin und von gewissen Gruppen (Receptoren) im Organismus selbst gebunden werden, und dass die Antitoxine nichts Anderes sind, als die in Freiheit gesetzten und im Blute circulirenden Receptoren — dann wird zur Auslösung der Antitoxinbildung keineswegs eine Giftwirkung nothwendig sein, sondern dieselbe ist zunächst nur von der Bindung des Giftes im Organismus abhängig als eine Function der haptophoren Gruppe.

Daher könnte man erwarten, Immunität und Antitoxinbildung durch Injection von Toxonen hervorrufen zu können. Das auf dieser Weise erzeugte Antitoxin muss dieselbe Wirkung haben, wie das bei gewöhnlicher Immunisirung mit Diphtheriegift gewonnene.

---

[1] Ehrlich, a. a. O.

Madsen, Ueber Messung der Stärke des antidiphtherischen Serums. *Diese Zeitschrift*. 1887. Bd. XXIV. — La constitution du poison diphtérique. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1899.

[2] Ehrlich, a. a. O. — Die Constitution des Diphtheriegiftes. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1898.



Schon in seiner Abhandlung: „Die Werthbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen“ deutet Ehrlich die Möglichkeit an, mit Toxonen zu immunisiren. Da aber bis jetzt diesbezügliche Untersuchungen nicht vorliegen, haben wir uns entschlossen, diese Frage einem eingehenden Studium zu unterwerfen.

Als Toxone bezeichnen wir im folgenden immer eine solche nicht ganz neutralisirte Mischung von Gift und Antikörper, die, Meerschweinchen injicirt, die schon obenerwähnten Eigenschaften besitzt: Sie tödtet nicht acut, bildet kleine, weiche, schnell vorübergehende Infiltrationen, die nicht von Nekrose und Alopecie gefolgt werden, und ruft nach einer Incubationszeit von mehreren Wochen eine typische Parese hervor.

Toxongrenze nennen wir den Neutralisationsgrad, der eben den Uebergang von Toxon- zu Toxinwirkung bezeichnet.

Nach dem Vorgang Ehrlich's wird die Immunitätseinheit in 200 Antitoxinbindungseinheiten getheilt. Die von einer Antitoxinbindungseinheit ($^1/_{200}$ I-E.) neutralisirte Giftmenge wird ein Toxin- bezw. Toxonäquivalent genannt.

Bevor wir die eigentlichen Immunisirungsversuche vornahmen, mussten wir doch einige Vorfragen aufklären.

Die erste war, ob der Unterschied zwischen Toxinen und Toxonen vielleicht nur eine quantitative und nicht eine qualitative wäre, mit anderen Worten, ob man nicht bei der Anwendung von grossen Mengen Toxon echte Toxinwirkungen hervorrufen könnte. Es war von besonderer Wichtigkeit dieses zu entscheiden, da man im Laufe der Immunisirung grosse Mengen der Mischung injiciren musste.

Es zeigte sich, dass Mischungen von Gift und Antitoxin, die nahe an der Toxongrenze waren, in kleinen Dosen nur Toxonwirkung erzeugten. Wurden sie aber bis zum 10fachen vergrössert, dann sah man sehr häufig die Meerschweinchen in wenigen Tagen sterben. Wählte man aber solche Mischungen, die mit etwas mehr Antitoxin gesättigt waren, so erhielt man auch von der 10fachen Dosis nur Toxonwirkungen.

Für die Versuche wurden 3 verschiedene Gifte verwendet (C, E und F). Gift C ist früher ausführlich beschrieben[1]. Die Constanten, an Meerschweinchen von 250 grm gemessen, waren

^+M 250 grm . . . . . = 0·009 ccm
L_+ „ . . . . . . = 0·82 „
Lo „ . . . . . . = 0·6 „
Toxonmenge = 50 Aequivalente.

[1] Madsen, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899.



Wie die 2 anderen Gifte war Gift E gewonnen von einer Diphtheriecultur, die uns gütigst von Herrn Geh. Med.-Rath Prof. Dr. P. Ehrlich überlassen war; die Einstellung des Giftes wurde mit Testserum ausgeführt, das uns immer mit der grössten Liebenswürdigkeit von dem Kgl. Institute f. exper. Therapie zur Verfügung gestellt wurde.

Die Constanten des Giftes E für Meerschweinchen waren:

$^{+}$M 250 grm . . . . . . = 0·0076 ccm
L_{+} „ . . . . . . = 0·76 „
Lo „ . . . . . . = 0·6 „

Die Toxonmenge wurde nach Versuchen mit partieller Sättigung als ca. **33** bestimmt (Toxongrenze ca. $^{167}/_{200}$ I.-E.). Siehe Tabellen I bis III.

Tabelle I.

Gift E.

Tödtliche Minimaldosis für Meerschweinchen. (Gew. 250 grm.)

Dosis in ccm	† nach	Infiltration	Dosis in ccm	† nach	Infiltration
0·01	72 Stunden	gross	0·0078	72 Stunden	gross
0·01	64 „	„	0·0076	84 „	„
0·009	65 „	„	0·0076	60 „	klein
0·009	64 „	mittelgross	0·0076	96 „	gross
0·0085	84 „	gross	0·0076	72 „	mittelgross
0·008	65 „	klein	0·0075	96 „	„
0·008	8 Tagen	mittelgross, Nekrosis	0·0075	6 Tage	„
			0·0075	8 „	„
0·008	62 Stunden	gross	0·007	8 „	gross
0·0078	72 „	„	0·006	8 „	„
0·0078	108 „	klein			

Tabelle II.

Gift E.

Bestimmung von L_{+} und Lo für Meerschweinchen (Gew. 250 grm) subcutan.

1 I.-E. + folgende Giftmenge in ccm	† nach	Infiltration	Parese	
			Incubationszeit in Tagen	† nach Tagen
0·93	40 Stunden	—		
0·82	32 „	—		
0·80	60 „	mittelgross		
0·80	60 „	gross		
0·80	96 „	„		
0·78	62 „	„		
0·78	60 „	mittelgross		
0·78	60 „	„		

Tabelle II. (Fortsetzung.)

1 I.-E. + folgende Giftmenge in ccm	† nach	Infiltration	Parese	
			Incubationszeit in Tagen	† nach Tagen
0·77	60 Stunden	mittelgross	—	—
0·77	60 „	„	—	—
0·77	60 „	„	—	—
0·76	7 Tagen	gross	—	—
0·76	62 Stunden	„	—	—
0·76	84 „	mittelgross	—	—
0·76	72 „	gross	—	—
0·75	64 „	„	—	—
0·75	7 Tagen	„	—	—
0·75	72 Stunden	„	—	—
0·75	—	mittelgross	14	17
0·74	—	„	15	18
0·74	—	„	14	17
0·72	—	klein	15	19
0·70	—	mittelgross	13	20
0·69	—	„	14	23
0·69	—	„	14	21
0·68	—	klein	15	26
0·68	—	„	14	24
0·67	—	Spur	18	24
0·67	—	0	20	lebt
0·66	—	0	20	„
0·64	—	klein	13	22
0·62	—	0	18	lebt
0·60	—	0	0	„
0·60	—	0	0	„

Tabelle III.

Gift E.

Bestimmung der Toxongrenze für Meerschweinchen (250 grm) subcutan.

0·6 ccm (Lo) + x/200 I.-E. x =	† nach	Infiltration	Parese	
			Incubationszeit in Tagen	† nach Tagen
194	—	0	0	lebt
188	—	klein	24	„
185	—	mittelgross	15	17
185	—	„	18	24
185	—	klein	16	24
185	—	„	14	19
185	—	„	14	18

Tabelle III. (Fortsetzung.)

0·6 ccm (Lo) + x/200 I.-E. x =	† nach	Infiltration	Parese	
			Incubationszeit in Tagen	† nach Tagen
185	—	klein	14	21
185	—	„	16	24
169	—	gross	14	17
169	5 Tagen	„	0	—
169	—	klein	19	24
169	11 Tagen	„	0	—
164	90 Stunden	gross	0	—
164	6 Tagen	„	0	—
160	80 Stunden	mittelgross	0	—
160	7 Tagen	„	0	—
159	60 Stunden	„	0	—
159	5 Tagen	gross	0	—
150	86 Stunden	„	0	—
150	60 „	„	0	—

Für **Kaninchen** (1200 bis 1600 grm) wurden folgende Constanten gefunden:

^{+}K . . . . = 0·0076 ccm
L_{+} . . . . = 0·61 „
Lo . . . . = 0·5 „

(Vgl. Tabellen IV u. V.)

Tabelle IV.

Gift E.

Tödtliche Minimaldosis für Kaninchen (Gew. 1200 bis 1600 grm) intravenös.

Dosis in ccm	† nach
0·06	40 Stunden
0·05	21 „
0·04	36 „
0·03	50 „
0·02	40 „
0·0076	84 „

Dosis in ccm	† nach
0·0076	96 Stunden
0·0076	72 „
0·0076	60 „
0·0075	5 Tagen
0·0075	8 „
0·0075	7 „

Tabelle V.

Gift E.

Bestimmung von L_+ und Lo für Kaninchen (Gew. 1200 bis 1600 grm) intravenös.

1 I.-E. + folgende Giftmenge in ccm	† nach	Parese	
		Incubationszeit	Ausfall
0·64	36 Stunden	0	—
0·63	36 „	0	—
0·62	60 „	0	—
0·61	96 „	0	—
0·60	8 Tagen	0	—
0·59	—	12 Tagen	† nach 18 Tg.
0·52	—	27 „	lebt
0·50	—	0	„
0·50	—	0	„

Werden diese Werthe für L_+ und Lo mit den obenstehenden für Meerschweinchen verglichen, so sieht man, dass Lo für Meerschweinchen (0·6 ccm) ungefähr L_+ für Kaninchen (0·61 ccm) entspricht. Einige Versuche mit Gift C haben ganz ähnliche Verhältnisse gezeigt, nämlich dass die für Meerschweinchen ganz unschädliche Mischung von einer Immunitätseinheit mit 0·6 ccm (Lo) tödtend (also L_+) für das viel grössere Kaninchen war, während man Lo = 0·5 ccm fand.

Wird die Toxonmenge für Gift E nach der Formel **Ehrlich's** mit den bei Kaninchen gefundenen Constanten berechnet, bekommen wir ca. 33, welche Zahl auch die partielle Sättigung zeigt. (Tabelle VI).

Tabelle VI.

Gift E.

Bestimmung der Toxongrenze (Kaninchen) intravenös.

0·5 ccm (Lo) + $^x/_{200}$ I.-E. x =	† nach	Parese	
		Incubationszeit in Tagen	† nach Tagen
175	—	16	22
175	—	18	24
175	—	13	16
175	—	14	18
169	—	12	18
167	8 Tagen	0	—
164	96 Stunden	0	—
161	60 „	0	—



Mischen wir 0·6 ccm Gift mit einer ($^{200}/_{200}$) Immunitätseinheit, so ist dieses Gemisch vollkommen unschädlich für Meerschweinchen. Ganz dasselbe Verhältniss zwischen Gift und Antitoxin haben wir in der Mischung 0·5 ccm Gift + $^{167}/_{200}$ I-E. Wie oben erwähnt, ist diese aber gar nicht unschädlich für Kaninchen, enthält aber 33 Toxonäquivalente für diese Thiere. 0·6 ccm Gift + $^{200}/_{200}$ I-E enhält folglich 40 Toxonäquivalente[1].

Da die von einer Immunitätseinheit neutralisirte Giftmenge (Lo) verschieden gefunden wird, wenn man die Prüfung auf Meerschweinchen oder auf Kaninchen vornimmt, ist es auch klar, dass ein „Aequivalent" oder das von einer bestimmten Antitoxinmenge $^{1}/_{200}$ I-E. neutralisirte Giftquantum nicht dasselbe ist gegenüber verschiedenen Thierspecies. Es ist z. B. kleiner für Kaninchen als für Meerschweinchen.

Wir können also folgendes Schema aufstellen:

0·6 ccm (Lo f. Meerschw.) + $^{240}/_{200}$ I-E. { Ueberschuss von $^{40}/_{200}$ I-E. für Meerschweinchen.
Neutral f. Kaninchen (entspricht dem Verhältniss:
0.5 ccm (Lo Kan.) + $^{200}/_{200}$ I-E.)

0·6 ccm + $^{200}/_{200}$ I.-E. { Neutral f. Meerschw.
40 frei Toxonäqu. f. Kan. entspr. dem Verhältniss:
0.5 (Lo Kan.) + $^{167}/_{200}$ I.-E.)

0.6 ccm + $^{167}/_{200}$ I.-E. { 33 frei Toxonäqu. f. Meerschw.
40 „ „ + 33 freie Toxinäqu. f. Kaninchen
(entspicht dem Verhältniss)
0·5 ccm (Lo Kan.) + $^{139}/_{200}$ I.-E.)

Es geht aus dem obenstehenden Schema hervor, dass in 0·6 ccm von Gift E 40 freie Toxonäquivalente sind, deren Existenz wir nur durch Injection am Kaninchen erkennen können, wo sie typische Paresen hervorrufen, während die Mischung ganz unwirksam gegenüber Meerschweinchen ist. Erst wenn wir die Antitoxinmenge allmählich verringern, von $^{200}/_{200}$ auf $^{167}/_{200}$ I.-E., erhält die Mischung Toxonwirkung den Meerschweinchen gegenüber, aber gleichzeitig Toxinwirkung für Kaninchen.

Man sieht also, dass Gift-Antitoxinmischungen, welche typische Toxonwirkung bei dem einen Versuchsthier (Kaninchen) zeigen, gar keine nachweisbare Wirkung bei Versuchsthieren anderer Species (Meerschweinchen) zu haben brauchen. Gift-Antitoxinmischungen ferner, die eine ausgesprochene und typische Toxonwirkung für eine Thierspecies (Meerschweinchen) haben, können als Toxin[2] gegenüber anderen Versuchsthieren (Kaninchen) wirken.

---

[1] Die Berechnung Madsen, siehe a. a. O. S. 807.

[2] v. Georges Dreyer, *Experim. Undersögelser over Difterigiftens Toxoner.* Kopenhagen 1900.



Das letzte Gift, F, wurde nicht so genau als die zwei anderen Gifte untersucht. Wir begnügten uns, die für die Immunisation nothwendigen Constanten für Meerschweinchen zu bestimmen:[1]

$$\text{Lo} = 0\cdot62\ ^{\text{ccm}},$$
$$\text{Toxonmenge} = 50\ \text{Aequivalente}.$$

Als Antitoxin diente ein sehr schwaches Präparat, das bei zahlreichen, sorgfältigen Messungen stets 32 Immunitätseinheiten pro Ccm. zeigte.

Die Einzelheiten der Versuche finden sich in den nachstehenden Tabellen.

Die zur Immunisirung von Ziege und Pferd verwendete Gift-Antitoxinmischung war:

Gift C: $0\cdot6\ ^{\text{ccm}} + {}^{160}/_{200}$ I.-E.	(Toxongrenze	$^{150}/_{200}$ I.-E.)
„ E: $0\cdot6\ ^{\text{ccm}} + {}^{185}/_{200}$ „	„	$^{167}/_{200}$ „
„ E: $0.62\ ^{\text{ccm}} + {}^{175}/_{200}$ „	„	$^{150}/_{200}$ „

also stets eine solche, die ganz sicher keine Toxinwirkung für Meerschweinchen hatte.

Die Kaninchen wurden mit folgender Mischung immunisirt:

$$0\cdot5\ ^{\text{ccm}}\ \text{Gift E} + {}^{175}/_{200}\ \text{I.-E.}$$

die also nur Toxonwirkung für Kaninchen zeigte.

Die Immunisirung wurde nach den üblichen Regeln gemacht, indem keine neue Injection vorgenommen wurde, bevor die Reaction nach der vorausgehenden vollständig verschwunden war. Die Blutproben wurden gemeinlich am 8. Tage nach der letzten Injection genommen, zu welchem Zeitpunkt die Antitoxincurve nach einer Einzelinjection von Diphtheriegift gewöhnlich ihre Akme zeigt.[2]

Die Immunisirung von **Kaninchen** war sehr schwierig; die Thiere gingen fast immer an Kachexie verloren, oft lange Zeit nach der Toxininjection.

Bei einem Thiere gelang es indessen, die Immunisirung durchzuführen. Am 28. IX. 1899 bekam das Kaninchen eine intravenöse Injection von

---

[1] Es ist zu bemerken, dass trotzdem die Diphtheriebouillon, von denen die drei Gifte C, E und F stammten, zu ganz verschiedenen Zeiten bereitet wurde (Gift F wurde von einer grossen Menge älterer und jüngerer Filtrate zusammengegossen), man doch eine grosse Uebereinstimmung unter den Constanten fand. Die tödtliche Minimaldosis war Anfangs für alle drei Gifte ca. $0\cdot006\ ^{\text{ccm}}$, später schwächten sie sich allmählich ab. Auch Lo war ungefähr dieselbe Dosis, $0\cdot6\ ^{\text{ccm}}$ für Meerschweinchen und $0\cdot5\ ^{\text{ccm}}$ für Kaninchen, welche Werthe noch unverändert sind.

[2] Salomonsen und Madsen, Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897 und 1899.

0.5 ^{ccm} Gift + $^{192}/_{200}$ I.-E. = 8 Toxonäquivalenten. 16 Tage später wurde eine leichte Parese wahrgenommen, von der sich das Thier nach Verlauf von 16 Tagen vollständig erholt hatte. Als das Thier am 25. XI. 1899 circa 62 freie Toxonäquivalente bekam, wurde diese bedeutende Giftmenge verhältnissmässig gut vertragen, indem das Kaninchen 4 Wochen später nur eine ganz leichte kurzdauernde Parese zeigte. Darnach konnte die Dosis allmählich vergrössert werden, so dass das Kaninchen 7 Monate nach dem Anfang der Immunisirung leicht eine Mischung von 50 ^{ccm} Gift und $^{17500}/_{200}$ I.-E. vertrug, welches 6·25 ^{ccm} Gift ohne Antikörpern oder 2500 freie Toxonäquivalenten entspricht. Dies entspricht ca. der 100fachen einer Mischung, die nach 2 bis 3 Wochen mit Sicherheit eine tödtliche Parese bei Kaninchen von gleichem Gewicht hervorruft.

Nachdem die zwei ersten Attaquen von Parese glücklich überstanden waren, zeigte das Thier bei der weiteren Immunisirung keine Störungen; es entstanden so gut wie keine Infiltrationen an der Injectionsstelle; die Fresslust wurde nicht afficirt, es wurde keine Temperaturerhöhung wahrgenommen, und das Gewicht war in stetigem Zunehmen.

Offenbar lag hier eine ausgesprochene Unempfindlichkeit für die giftigen Wirkungen des Toxons vor. Um die Frage zu klären, ob diese Unempfindlichkeit auch die Wirkungen des Toxins umfasste, injicirte man in die Ohrvene am 12. V. 1900 6.25 ^{ccm} Reingift = 822 Mal tödtliche Minimaldosis, in Aequivalenten genau gleich dem nicht gesättigten Gift-(Toxon-)Ueberschuss in der letztinjicirten Mischung, 50 ^{ccm} Gift + $^{17500}/_{200}$ I.-E. Weder nach der erstgenannten noch nach der letztgenannten Injection war irgend eine Reaction wahrzunehmen. Später wurden Dosen bis 15 ^{ccm} Reingift gut vertragen. Das Thier hatte also durch Behandlung mit Toxon Immunität sowohl gegen Toxon als gegen Toxin erworben.

Vor Beginn des Versuches wurde untersucht, ob das Serum des Kaninchens normal Antitoxin enthalte; dieses aber war nicht der Fall. Auch später gelang es niemals, auch nur Spürchen von Antitoxin in seinem Blut zu finden, selbst nicht beim Aderlass am 4. V. 1900, da das Thier alles in allem über 5000 Toxonäquivalente bekommen hatte, ca. 13 ^{ccm} ungesättigten Giftes entsprechend. Wie es aus der Messung am 15. VI. 1900 hervorgeht, machte es in dieser Beziehung gar keinen Unterschied, dass man später statt Toxon Gift in gewöhnlicher Weise verwendete. (Tabelle VII).

Was die Ziege betrifft, konnte man ziemlich schnell — im Laufe von einigen Monaten — die Dosis zu 150 ^{ccm} Gift + $^{46250}/_{200}$ I.-E. steigern, ohne dass das Thier merklich beeinflusst wurde. Nur einmal verursachte eine Injection eine geringe Temperaturerhöhung und eine unbedeutende einen Tag dauernde Infiltration. Irgend eine andere locale oder allgemeine



Tabelle VII. Immunisirungstabelle für Kaninchen.

Injection							Aderlass		
				Einzeldosis					
Datum	Gewicht in grm	Injectionsweise	Gift	Giftdosis in ccm + $^{x}/_{200}$ (I.)	Ungesätt. Giftmenge in ccm	Freie Toxonäquivalente	Datum	Immunisirungseinheiten pro ccm Serum	Reaction nach den Injectionen
							1899 22. IX.	< 0·1	
1899 28. IX.	1240	intraven.	E.	0·5 + $^{192}/_{200}$	0·02	8			Keine Reaction. Gewichtszunahme. 14. X. 1899 leichte Parese, die am 30. X. 1899 vollständig verschwund. ist.
25. XI.	1790	„	„	1·25 + $^{437.5}/_{200}$	0·16	63			Keine Reaction. Gute Fresslust. Gew.-Zunahme. 27. XII. 1899 Spürchen von Parese, die nach 3—4 Tagen verschwunden ist.
1900							1900		
6. III.	2130	„	„	5 + $^{1750}/_{200}$	0·63	250			Keine Reaction.
14. III.	2150	„	„	10 + $^{3500}/_{200}$	1·25	500			desgl.
22. III.	2200	„	„	15 + $^{5250}/_{200}$	1·88	750	26. III.	< 0·1	desgl.
14. IV.	2200	subcutan	„	25 + $^{8750}/_{200}$	3·15	1250			Kleine Infiltr., nach 24 Std. verschwunden. Gute Fresslust. Keine Paresen.
26. IV.	2200	„	„	50 + $^{17500}/_{200}$	6·25	2500	4. V.	< 0·1	desgl.
12. V.	2240	intraven.	„	6·25					Keine Reaction.
22. V.	2280	„	„	9					desgl.
1. VI.	2290	subcutan	„	12					Kleine Infiltr., nach 2 Tagen verschwund. Keine Nekrose. Keine Parese. Gute Fresslust.
11. VI.	2290	„	„	15			15. VI.	< 0·1	12. VI. recht grosse Infiltrat. 16. VI. Abscess an Injectionsstelle. Geringe Fresslust. Gewichtsverlust. 18. VI. Tod. Sect.: Pneumonie u. Empyem-

Tabelle VIII.

Immunisirungstabelle für die Ziege.

Injectionen						Aderlass		
			Einzeldosis					
Datum	Injectionsweise	Gift	Giftdosis in ccm + $^{x}/_{200}$ (I.)	Ungesätt. Giftmenge in ccm	Freie Toxonäquivalente	Datum	Immunisirungseinheiten pro ccm Serum	Reaction nach den Injectionen
						1899 4. XII.	< 0·1	
1899 5. XII.	subcutan	E.	$0·3 + ^{92·5}/_{200}$ (I.)	0·023	7·5			Keine locale Reaction. Gute Fresslust. Keine Temperaturerhöhung.
12. XII.	„	„	$0·6 + ^{185}/_{200}$	0·045	15			Keine Reaction.
20. XII.	„	„	$1·2 + ^{370}/_{200}$	0·09	30			desgl.
29. XII.	„	„	$2·4 + ^{740}/_{200}$	0·18	60			desgl.
1900 6. I.	„	„	$6·0 + ^{1850}/_{200}$	0·45	150	1900		desgl.
13. I.	„	„	$15·0 + ^{4625}/_{200}$	1·13	375			desgl.
20. I.	„	„	$30·0 + ^{9250}/_{200}$	2·26	750			desgl.
29. I.	„	„	$60·0 + ^{18500}/_{200}$	4·51	1500			Geringe Infiltration, nach 24 Stunden verschwunden. Geringe Temp.-Erhöhung.
7. II.	„	„	$150·0 + ^{46250}/_{200}$	11·28	3750	17. II.	> 5 < 10	Keine Reaction.



Tabelle IX. Immunisirungstabelle für Pferd Nr. 18.

Injectionen						Aderlass		
			Einzeldosis					
Datum	Injectionsweise	Gift	Giftdosis in ccm + $^{x}/_{200}$ (I.)	Ungesätt. Giftmenge in ccm	Freie Toxonäquivalente	Datum	Immunisirungseinheiten pro ccm Serum	Reaction nach den Injectionen
						24. XI. 1899	<0·1	
27. XI. 1899	subcutan	E.	$0 \cdot 3 + {}^{92.5}/_{200}$	0·023	7·5			Keine locale Reaction. Gute Fresslust. Geringe Temp.-Erhöhung.
5. XII. 1899	„	„	$0 \cdot 6 + {}^{185}/_{200}$	0·045	15			Keine Reaction.
12. XII. 1899	„	„	$1 \cdot 2 + {}^{370}/_{200}$	0·09	30			desgl.
20. XII. 1899	„	„	$1 \cdot 8 + {}^{555}/_{200}$	0·135	45			desgl.
29. XII. 1899	„	„	$4 \cdot 8 + {}^{1480}/_{200}$	0·36	120			desgl.
5. I. 1900	„	„	$12 \cdot 0 + {}^{3700}/_{200}$	0·9	300			desgl.
12. I. 1900	„	„	$30 \cdot 0 + {}^{9250}/_{200}$	2·26	750			desgl.
19. I. 1900	„	„	$60 \cdot 0 + {}^{18500}/_{200}$	4·51	1500	23. I. 1900	>50<100	desgl.
26. I. 1900	„	„	$120 \cdot 0 + {}^{37000}/_{200}$	9·02	3000	30. I. 1900	>90<100	Geringe Infiltration, nach 24 Std. verschwunden. Gute Fresslust. Geringe Temperaturerhöhung.
3. II. 1900	„	„	$300 \cdot 0 + {}^{92500}/_{200}$	22·56	7500	3. II. 1900	>100	Keine locale Reaction. Gute Fresslust. Geringe Temp.-Erhöhung.
						10. II. 1900	>160<200	
13. II. 1900	„	„	$399 \cdot 0 + {}^{123025}/_{200}$	30·00	9975	17. II. 1900	>200	desgl.
						20. II. 1900	>300	
25. II. 1900	„	„	$798 \cdot 0 + {}^{246050}/_{200}$	60·00	19950	6. III. 1900	>350<400	Kleine Infiltrat., nach 24 Std. verschwunden. Geringe T.-Erhöhung.
28. III. 1900	„	F.	$50 \cdot 0 + {}^{14000}/_{200}$	6·25	2000			Temp. bis 39°, recht bedeutende Infiltrat., die 4—5 Tage dauerte.
30. III. 1900	„	„	$100 \cdot 0 + {}^{28000}/_{200}$	12·5	4000			
8. IV. 1900	„	„	$200 \cdot 0 + {}^{56000}/_{200}$	25	8000			desgl.
17. IV. 1900	„	„	$400 \cdot 0 + {}^{112000}/_{200}$	50	16000			
26. IV. 1900	„	„	$800 \cdot 0 + {}^{224000}/_{200}$	100	32000			
14. V. 1900	„	„	100·0	100				

Tabelle X.

Immunisirungstabelle für Pferd Nr. 26.

Injectionen						Aderlass		Reaction nach den Injectionen
			Einzeldosis					
Datum	Injectionsweise	Gift	Giftdosis in ccm + $^x/_{200}$ (I.)	Ungesätt. Giftmenge in ccm	Freie Toxonäquivalente	Datum	Immunisirungseinheiten pro ccm Serums	
1900						1900 1. III.	<0·1	
15. III.	subcutan	E.	$0\cdot3+{}^{92\cdot5}/_{200}$	0·023	7·5	—	—	Keine locale oder allgemeine Reaction.
23. III.	„	„	$0\cdot6+{}^{185}/_{200}$	0·045	15	—	—	desgl.
30. III.	„	„	$1\cdot2+{}^{370}/_{200}$	0·09	30	—	—	
8. IV.	„	„	$1\cdot8+{}^{555}/_{200}$	0·135	45	—	—	Grosse Infiltration an Injectionsstelle, 8 Tage dauernd. Temperatur bis 39·6°. Geringe Fresslust.
17. IV.	„	„	$4\cdot8+{}^{1480}/_{200}$	0·36	120	—	—	desgl.
24. IV.	„	„	$12\cdot0+{}^{3700}/_{200}$	0·9	300	—	—	desgl.
2. V.	„	„	$30\cdot0+{}^{9250}/_{200}$	2·26	750	—	—	desgl.
9. V.	„	„	$60\cdot0+{}^{18500}/_{200}$	4·51	1500	—	—	desgl.
16. V.	„	„	$120\cdot0+{}^{37000}/_{200}$	9·02	3000	—	—	Die Reaction war sehr stark. Temp. bis 40·2°. Das Thier frisst gar nichts mehrere Tage lang. Die Schwellung senkt sich am Bauch, wo sie noch am 11. VI. wahrgenommen werden konnte.
						24. V.	30	
11. VI.	„	„	$300\cdot0+{}^{92500}/_{200}$	22·56	7500		—	
						20. VI.	30	

Reaction wurde nicht beobachtet. Indessen stieg der Antitoxingehalt des Blutes, der zu Anfang des Versuches unter 0·1 I.-E. war, auf 5 bis 10 Immunitätseinheiten pro Ccm. Später konnte dieselbe Ziege ohne Schwierigkeit grosse Mengen Reingift ertragen. (Tabelle VIII).

Von den 4 Pferden, die in Versuch genommen wurden, sind die zwei, Nr. 18 und Nr. 26, mit genau denselben Mengen Toxon (Gift E) behandelt. Es war indessen unmöglich, die Injectionen in denselben Zeitintervallen zu geben, indem die Thiere überaus verschieden reagirten.

Nr. 18 hatte während des ganzen Versuchs so gut wie keine Reaction nach den Injectionen. Nur einige Male zeigte sich nach der Einführung der grossen Giftmengen unter die Haut eine unbedeutende locale Schwellung, die immer am nächsten Tage verschwunden war und bisweilen von einer Temperaturerhöhung von einigen 0.1° begleitet wurde. (Tabelle IX).

Pferd Nr. 26 dagegen wurde schon nach den ersten kleinen Toxonmengen bedeutend angegriffen, und als die Dosen nach und nach vergrössert wurden, bekam das Thier nach jeder Injection eine grosse Infiltration mit Senkung unter den Bauch und nach den Extremitäten, sowie mit einer mehrere Tage dauernden Temperaturerhöhung bis ca. 40°, schlechtem Allgemeinbefinden und mangelnder Fresslust. (Tabelle 10).

Auch die Untersuchung der Sera dieser Thiere ergab grosse Unterschiede. Nachdem Pferd Nr. 18 alles in allem 111 ccm Gift mit circa 175 Immunitätseinheiten gemischt, was nur 8 ccm freiem Gift in Aequivalenten entspricht, bekommen hatte, zeigte es eine Serumstärke von zwischen 50 und 100 I.-E. pro Ccm. Während der fortgesetzten Immunisirung im Laufe der folgenden 5 Wochen stieg der Antitoxingehalt des Serums dieser Pferde so hoch, dass er nach 120 ccm Gift + $^{37000}/_{200}$ I.-E. über 100 Immunitätseinheiten pro Ccm., nach 300 ccm Gift + $^{92500}/_{200}$ I.-E. zwischen 160 und 200 Immunitätseinheiten pro Ccm. erreichte. Auf dem entsprechenden Stadium hatte Pferd Nr. 26 nur ca. 30 Immunitätseinheiten pro Ccm., welche Serumstärke es überhaupt niemals überschritt.

9 Tage nach einer Injection von ca. 800 ccm Gift-Antitoxingemisch erreichte Nr. 18 zwischen 350 und 400 Immunitätseinheiten pro Ccm. Das Thier hatte dann während der ganzen Immunisirung ca. 130 ccm freies Gift bekommen.

Die Immunisirung von zwei anderen Pferden, Nr. 24 und 25 wurde mit Gift C eingeleitet auf ganz dieselbe Weise wie bei den beiden anderen. Nach Injection von im Ganzen 174 ccm Giftantitoxingemisch, 35 ccm freiem Gift entsprechend, zeigte es sich, dass die Thiere zwischen 30 und 40 I.-E. pro Ccm. erreicht hatten. Die Immunisirung wurde dann mit Gift F fortgesetzt. Nach im Ganzen 1600 ccm Giftantitoxingemisch, über 2 Monate



vertheilt, betrug der Antitoxingehalt von Nr. 24 50, von Nr. 25 100 Immunitätseinheit pro Ccm.

Nach Gift C äusserten die Pferde nur äusserst geringe Reaction, dieses war aber nicht der Fall nach Gift F. Namentlich die grossen Gaben von diesem Gifte erzeugten eine bedeutende Infiltration und Temperaturerhöhung bis 39 und 40°. Im Ganzen scheinen die Toxonen von Gift F eine viel intensivere Wirkung als die von Gift E und C zu haben. Da eine am 12. III. 1900 genommene Blutprobe zeigte, dass das Serum von Nr. 18 bis auf 150 I.-E. pro ^{ccm} heruntergegangen war, wurde die Immunisirung mit Gift F fortgesetzt, im Verhältniss 0·62 ^{ccm} Gift + $^{175}/_{200}$ I.-E. Wir fingen dann an mit einer viel geringeren Anzahl von Toxonäquivalenten (2000) als bei der letzten Injection von Gift E (19·950); sowohl die allgemeine als die locale Einwirkung war trotzdem eine viel grössere. Diese starke Reaction wurde nach allen späteren Injectionen mit Toxonen des Giftes F wahrgenommen. Bei kleineren Versuchsthieren haben wir schon früher a. a. O. einen entsprechenden Unterschied zwischen den verschiedenen Toxonen gefunden, sowohl in ihrer Fähigkeit Infiltration als Parese hervorzurufen.

Bevor die obengenannten 4 Pferde in Versuch genommen wurden, wurde ihr Blut auf Antitoxin geprüft. Für 3 Pferde war das Resultat ein negatives; das Serum von Nr. 26 hatte aber kenntliche giftneutralisirende Eigenschaften, entsprechend ca. $^1/_4$ I.-E. Wie erwähnt, war es eben dieses Thier, das nach der Immunisirung die niedrigste Serumstärke zeigte, indem es nicht über 30 kam. Diese Beobachtung scheint gegen die bisweilen angeführte Vermuthung zu sprechen, dass solche Thiere, die normal eine deutliche Antitoxinmenge in ihrem Blute haben, die für Antitoxindarstellung best geeigneten sein sollten.

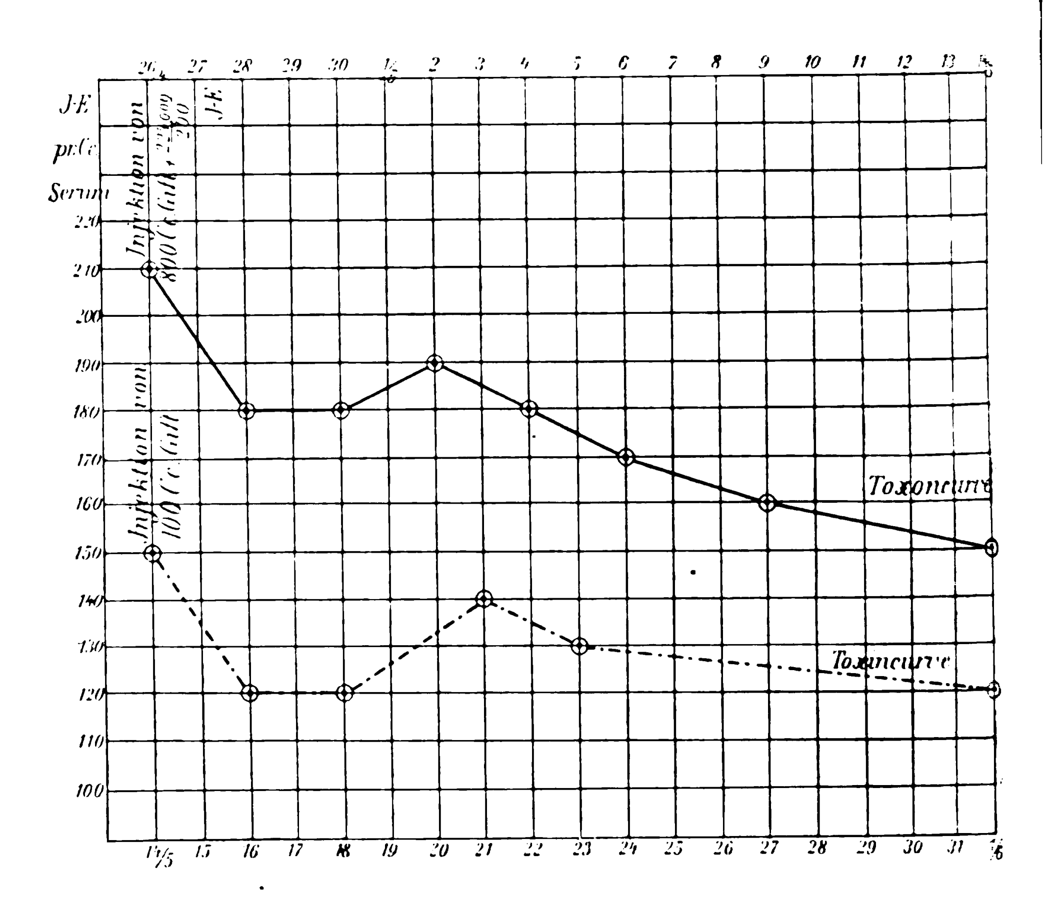
Die erwähnten Versuche haben gezeigt, dass man mit Toxonen Immunität erreichen kann, und dass es gelungen ist, durch dasselbe Antitoxin bei Thieren verschiedener Species zu produciren.

Wir verhehlen uns nicht, dass gegen diese Folgerung ein Einwand erhoben werden kann. Wie oben erwähnt, giebt es gewisse Mischungen von Gift und Antitoxin, die gegenüber Meerschweinchen Toxonwirkung, gegenüber Kaninchen dagegen Toxinwirkung haben. Da die Constanten und die Toxongrenze für die zwei der angewandten Thierspecies, Ziege und Pferd, nicht bekannt sind, sind wir ganz ausser Stande zu entscheiden, ob die zur Immunisation verwendete Gift-Antitoxinmischung nicht Toxinwirkung gegenüber diesen 2 Thierspecies gehabt hat.

Dieser Einwand gilt aber nicht für den Versuch mit dem Kaninchen, indem hierzu eine solche Mischung gebraucht wurde, die sicher Toxonwirkung für Kaninchen hatte.

Es war von Interesse zu untersuchen, wie diese mit Toxon immunisirte Thiere gewöhnlichem Diphtheriegift gegenüber reagirten. Man könnte sich ja denken, dass eine Toxininjection eine ganz andere Reaction hervorrufen würde, als die äquivalente Menge Toxon, d. h. ein Quantum Toxon, welches von derselben Antitoxinmenge als das Toxin neutralisirt wurde.

Sowohl das Kaninchen, die Ziege und alle 4 Pferde haben nach der Immunisirung mit Toxonen Giftmengen bekommen, die der bei der letzten



Injection vertragenen Toxonmenge entsprechen. Das gewöhnliche Gift hat in keinem Fall eine stärkere Reaction als die Toxonen verursacht; es scheint auch nicht den Stoss zu einer kräftigen Antitoxinbildung gegeben zu haben. Dieses konnte andeuten, dass es keinen wesentlichen Unterschied giebt zwischen der durch Toxin und durch Toxon verursachten Antitoxinbildung. Zur Untersuchung dieser Frage steht noch ein Mittel zu unserer Verfügung, nämlich ein Vergleich von der durch Gift allein entstehenden Antitoxincurve mit der durch die äquivalente Menge Toxon entstehenden.



Zu dieser Untersuchung diente Pferd Nr. 18. Es wurde die früher erwähnte Mischung von 0·62 ccm Gift F + $^{175}/_{200}$ I.-E. benutzt, in welcher $^{1}/_{8}$ des Giftes frei ist. Am 26. IV. wurden 800 ccm Gift + $^{224000}/_{200}$ I.-E., 100 ccm freiem Gift entsprechend, injicirt. Am $^{14}/_{5}$ bekam das Thier 100 ccm von demselben Gift, ohne Antitoxin. Die locale und generelle Reaction war fast dieselbe nach beiden Einspritzungen. Das Resultat der Serummessungen ist graphisch durch die beigefügten Curven dargestellt.

Man sieht, dass die beiden Curven fast vollständig parallel sind. Auch dies spricht für die Vermuthung, dass die haptophoren Gruppen von Toxin und Toxon sehr verwendet sind.

Die erwähnten Versuche haben gezeigt, dass man mittels systematischer Injectionen von Toxon, deren Eigenschaften so sehr verschieden von den des Toxins sind, im Stande ist, bei verschiedenen Thiergattungen Unempfindlichkeit gegenüber den schädlichen Wirkungen sowohl von Toxon als Toxin hervorzubringen. Bei Ziege und Pferd gelang es auch, Antitoxin zu erzeugen; dieses war im Stande, nicht allein Toxon sondern auch Toxin zu neutralisiren, was ja schon daraus hervorgeht, dass es sich nach der neueren Methode Ehrlich's messen lässt.

Das Kaninchen wurde zwar auch unempfindlich bei der Toxonimmunisirung, es war aber weder nach den Toxoninjectionen noch nach den späteren Toxininjectionen eine Spur von Antitoxin in seinem Blut zu entdecken. Dieses ist ein neues Beispiel, dass die Immunität nicht eine directe Function von der Anwesenheit des Antitoxins ist.

Bei mehreren der Thiere ist es also gelungen, Antitoxin zu erzeugen durch Injection eines Körpers, der keine nennenswerthen krankhaften Symptome hervorrief. Hierdurch eröffnete sich die Möglichkeit, durch die immunisirende Fähigkeit der Existenz von freiem Gift in einem dem Anscheine nach neutralen Gift-Antitoxingemisch direct nachzuweisen, oder von einem Gifte, dessen Wirkung so abgeschwächt ist, dass es keine krankhafte Reaction machen konnte.

Vielleicht besitzten wir gerade in der immunisirenden Fähigkeit das *schärfste* Reagens für ein Gift, das nicht im Stande ist, irgend eine toxische Wirkung am Organismus auszuüben.



[Aus dem Laboratorium für medicinische Bakteriologie der Universität Kopenhagen.]

Ueber die Grenzen der Wirkung des Diphtherieheilserums gegenüber den Toxonen des Diphtheriegiftes.

Von

Georges Dreyer.

Man konnte im Voraus erwarten, dass das Toxon, seiner geringeren Affinität entsprechend, auch langsamer und weniger intensiv zur lebenden Zelle im Organismus gebunden würde, als das Toxin.

Bevor ich die Untersuchungen, die ich zur Beantwortung dieser Frage gemacht habe, näher bespreche, will ich an eine Reihe von Versuchen erinnern, die Dönitz[1] gemacht hat, um zu bestimmen, wie schnell das Diphtheriegift im Organismus gebunden wird. Dönitz Versuche, die er alle an 2000 ^grm^ schweren Kaninchen vornahm, wurden auf folgende Art gemacht.

Er injicirte verschiedene Mengen Diphtheriegift, häufig die siebenfache tödtliche Minimaldosis in die Randvene des einen Ohres, und nach Verlauf einiger Zeit injicirte er hierauf die in vitro gerade neutralisirende Menge Antitoxin in die Randvene des anderen Ohres. Er kam zu dem Resultat, dass die genau neutralisirende Antitoxinmenge schon 15 Minuten nach der Injection von Diphtheriegift (siebenfach tödtliche Minimaldosis) das Thier vor dem Tode nicht mehr schützen kann.

Er meint der Grund hierfür sei der, dass das Gift sehr schnell aus dem Blut verschwindet und von dem Gewebe gebunden wird.

---

[1] Ueber die Grenzen der Wirkung des Diphtherieheilserums. *Archiv internat. de Pharmocodynamie.* 1899. Bd. V. p. 425.

Die Versuche, die ich gemacht habe, um die Bindungszeit des Toxons zu bestimmen, sind an Kaninchen im Gewicht von 1200 bis 1500 ^{grm} angestellt. Alle Injectionen sind in die äusseren Randvene des Ohres gemacht worden, und zwar so, dass das Toxon immer in die rechte, das Antitoxin in die linke Ohrvene injicirt wurde. Für die Versuche wurde das in der vorigen Abhandlung ausführlich erwähnten Gift E. verwendet. 0·5 ^{ccm} hiervon (Lo Kaninchen) mit 1 ($^{200}/_{200}$) I.-E. gemischt zeigte sich vollständig unschädlich Kaninchen gegenüber. Dagegen war die Mischung von 0·5 ^{ccm} Gift + $^{175}/_{200}$ I.-E., in welcher 25 Toxonäquivalente frei sind, eine solche, die ganz sicher nach einer Incubationszeit von 12 bis 18 Tagen, eine letale Parese bei den Controlthieren hervorrufen muss. Erst wurde diese Mischung eingespritzt und darnach injicirte man zu verschiedenen Zeitpunkten die in vitro genau neutralisirende Dosis Antitoxin, $^{25}/_{200}$ I.-E., d. h. die Menge von Antitoxin, die erforderlich ist, um die Mischung 0·5 ^{ccm} Gift + $^{175}/_{200}$ I.-E. in vitro vollständig zu neutralisiren. Die Resultate der Versuche gehen aus der beigefügten Tabelle A hervor.

Wenn man die genau neutralisirende Menge Antitoxin unmittelbar bis zwei Stunden, nachdem die Toxoninjection stattgefunden hat, injicirt, sieht man, dass die Giftwirkung des Toxons complet unschädlich gemacht wird, indem keine Parese eintritt.

Tabelle A.

Das Gewicht des Versuchsthieres in grm	Anzahl der freien Toxonäquivalente	Antitoxin		Paresen				†
		Minuten od. Stunden nach der Injection	Menge in I.-E.	Incubationszeit in Tagen	Grad	Dauer in Tagen	Verlauf	Tage nach der Injection
1240	25	1 Min.	$^{25}/_{200}$	0	0	0	0	lebt
1310	25	2 Std.	"	0	0	0	0	"
1290	25	2 "	"	0	0	0	0	"
1320	25	5 "	"	0	0	0	0	"
1500	25	5 "	"	27	leicht	12	geheilt	"
1335	25	10 "	"	22	mittelstark	15	"	"
1250	25	10 "	"	20	"	19	"	"
1470	25	16 "	"	14	stark	13	†	17
1400	25	16 "	"	0	0	0	"	16[1]
1400	25	24 "	"	13	stark	4	"	17
1400	25	24 "	"	13	mittelstark	31	geheilt	lebt
Controle 1340	25	0	0	13	stark	3	†	16
Controle 1210	25	0	"	13	"	4	†	18

[1] An eitriger Perikarditis.



Macht man die Antitoxininjection 5 Stunden darnach, so scheint man den Zeitpunkt gefunden zu haben, wo die in vitro neutralisirende Dosis Antitoxin nicht mehr sicher neutralisirt, indem das eine Kaninchen einer Parese entgeht, während das andere eine leichte, im Laufe von 12 Tagen geheilte Parese bekommt, jedoch erst am 27. Tag, viel später als die Controlthiere (13 Tage).

Noch 10 Stunden nach der Toxoninjection spürt man eine deutliche Wirkung des Antitoxins, und wenn sie auch die Paresen nicht verhindert, so verzögert sie doch das Eintreten derselben bis 20—22 Tage nach der Injection.

Injicirt man die genau neutralisirende Dosis Antitoxin bezw. 16 bis 24 Stunden nach dem Toxon, so hat es keine Wirkung, wie es deutlich aus den Versuchen zu ersehen ist, indem die Paresen in diesen Fällen ebenso schnell eintreten wie bei den Controlthieren.

Zum Vergleich hiermit habe ich einige entsprechende Versuche mit dem Gift ohne Zusatz von Antitoxin gemacht, um Klarheit zu erreichen, wie sich das Toxin verhält.

In den vorhergehenden Versuchen waren $^{25}/_{200}$ von 0·5 ccm Gift (Lo) frei. Hier, wo eine analoge Menge Gift erforderlich war, injicirte man daher Lo (0·5) × $^{25}/_{200}$, was 0·0625 ccm reines Gift ergiebt. Diese Giftmenge ist für Kaninchen entschieden tödtlich, da sie der ca. 8 Mal tödtlichen Minimaldosis entspricht. In vitro wird sie vollständig von $^{25}/_{200}$ I.-E. neutralisirt, d. h. dieselbe Menge Antitoxin, die die 25 Toxonäquivalente neutralisirte.

Drei Kaninchen injicirte man diese Giftmenge (0·0625 ccm) intravenös und bezw. 1, 15 und 60 Minuten später injicirte man ihnen die in vitro genau neutralisirende Antitoxindosis, d. h. $^{25}/_{200}$ I. Das Resultat war, dass alle drei Kaninchen mit zunehmender Schnelligkeit, 44, 32 und 22 Stunden nach der Toxininjection, starben (siehe Tabelle B).

Tabelle B.

Das Gewicht des Versuchsthieres in grm	Giftdosis in ccm	Antitoxin: Minuten nach der Injection	Antitoxin: Menge in I.-E.	† Stunden nach der Injection
1240	0·0625	1	$^{25}/_{200}$	44
1330	„	15	„	32
1350	„	60	„	22



Da es also nicht möglich ist, sogar unmittelbar nach der Giftinjection, das in das Blut eingeführte Toxin durch die genau neutralisirende Antitoxinmenge unschädlich zu machen, scheint es berechtigt, dies so zu deuten: dass das Toxin sehr schnell aus dem Kreislauf verschwindet.

Aus den oben genannten Untersuchungen der Bindungszeit des Toxons im Organismus geht hervor, dass das Toxon in genauer Uebereinstimmung mit der geringeren Affinität zum Antitoxin auch längere Zeit im Blute circulirt und langsamer und weniger intensiv von den Geweben gebunden wird als das Toxin.

Um Klarheit zu bekommen, wie lange Zeit nach der Injection von grossen Mengen Antitoxin es möglich ist, die giftige Wirkung des Toxons, das, wie anzunehmen war, aus der Circulation verschwunden und wahrscheinlich von den Geweben gebunden war, aufzuheben, habe ich eine andere Reihe von Versuchen vorgenommen. Leider war es mir aus äusseren Ursachen nicht möglich, auch hierzu Kaninchen zu verwenden. Diese Versuche sind deshalb an Meerschweinchen von 250 ^{grm} Gewicht angestellt.

Die Experimente sind analog mit denen an Kaninchen vorgenommenen geordnet. Alle Injectionen, sowohl die des Toxons wie die des Antitoxins, sind doch subcutan gemacht worden. In beinahe allen Fällen umfasste die Toxonmenge ca. 15 Aequivalente, indem folgende Mischung benutzt wurde: 0·6 ^{ccm} Gift (Lo für Meerschweinchen) + $^{185}/_{200}$ I.-E., eine Toxonmenge, die bei sieben Controlmeerschweinchen, die später keine Antitoxin bekamen, im Laufe von 14 bis 18 Tagen eine starke, in allen Fällen tödtliche Parese hervorbrachte. Nur zwei Mal sind mehr Toxonäquivalente injicirt worden, und zwar zehn Mal so viele, d. h. die Mischung von 6 ^{ccm} Gift + $^{1850}/_{200}$ I.

Hierauf sind bezw. 1-, 2-, 4- und 5 mal 24 Stunden nach der Toxoninjection wechselnde Mengen Antitoxin gegeben worden, und zwar von 5 Mal die gerade neutralisirende Dosis (die $^{15}/_{200}$ I.-E. ist) bis zu ca. 28000 Mal dieselbe.

Die Injection des Antitoxins wurde immer auf der entgegengesetzten Seite von der gemacht, wo das Toxon injicirt wurde.

Das Resultat dieser Versuche geht aus der beigefügten Tabelle C hervor.

Von den 8 Versuchsthieren, denen 24 Stunden nach der Toxoninjection eine 5 bis 5000 Mal neutralisirende Dosis Antitoxin injicirt wurde, bekamen fünf gar keine Parese, während drei lange Zeit darnach, 26 bis 27 Tage, eine ganz leichte Parese bekamen, die im Laufe von 2 bis 7 Tagen wieder verschwand.

Von den 7 Versuchsthieren, denen zweimal 24 Stunden nach der Toxoninjection eine von 5000- bis 10000 mal neutralisirende Dosis Antitoxin injicirt wurde, bekam nur eines keine Parese, während die anderen



Tabelle [illegible]

Giftdosis (Lo) in Ccm + 1/200 I.-E.	Anzahl der freien Toxon-äquivalente	Antitoxin: x × 24 Std. nach der Injection	Antitoxin: Menge in I.-E.	Antitoxin: Multiplum der neutralis. Dosis	Paresen: Incubationszeit in Tagen	Paresen: Grad	Paresen: Dauer in Tagen	Paresen: Verlauf	† Tage nach der Injection
6 + 1850/200	150	1	3·45	4·6	27	leicht	7	geheilt	lebt
"	150	1	34·5	46	0	0	0	0	"
0·6 + 185/200	15	1	3·45	4·6	27	Spur	2	geheilt	"
"	15	1	150	2000	0	0	0	0	"
"	15	1	150	2000	26	leicht	5	geheilt	"
"	15	1	400	5333	0	0	0	0	"
"	15	1	400	5333	0	0	0	0	"
"	15	1	400	5333	0	0	0	0	"
"	15	2	400	5333	18	mittelstark	10	geheilt	"
"	15	2	400	5333	25	leicht	6	"	"
"	15	2	400	5333	25	Spur	3	"	"
"	15	2	400	5333	25	leicht	7	"	"
"	15	2	400	5333	24	"	4	getödtet, um histolog. Unters. zu machen	28
"	15	2	400	5333	25	"	6	geheilt	lebt
"	15	2	400	5333	0	0	0	0	"
"	15	4	1600	21333	18	mittelstark	11	geheilt	"
"	15	4	1600	21333	19	stark	10	†	29
"	15	4	1600	21333	21	"	10	†	31
"	15	5	1600	21333	25	"	3	†	28
"	15	5	1600	21333	16	"	6	†	22
"	15	5	1600	21333	21	mittelstark	11	geheilt	lebt
"	15	5	1600	21333	29	"	7	"	"
"	15	5	1600	21333	18	stark	3	†	21
Controle: 0·6 + 185/200	15	0	0	0	15	stark	2	†	17
"	15	0	0	0	18	"	6	†	24
"	15	0	0	0	16	"	8	†	24
"	15	0	0	0	14	"	5	†	19
"	15	0	0	0	14	"	4	†	18
"	15	0	0	0	14	"	7	†	21
"	15	0	0	0	16	"	8	†	24

sechs eine leichte Parese mit einer Incubationszeit von 18 bis 25 Tagen bekamen; dies ist ein viel längerer Zwischenraum als bei den Controlthieren, wo die Incubationszeit nur 14 bis 18 Tage dauerte. Die eingetretene Parese wurde im Laufe von 3 bis 10 Tagen vollständig geheilt, so dass keines der Versuchsthiere starb. (Das eine wurde am 28. Tage nach der Toxoninjection getödtet, um histologische Untersuchungen daran vorzunehmen.)

Die 3 Versuchsthiere, denen vier Mal 24 Stunden nach der Toxoninjection eine ca. 21000 Mal neutralisirende Dosis Antitoxin injicirt wurde, bekamen bei einer Incubationszeit von 18 bis 21 Tagen alle Paresen. Bei zweien von diesen Fällen waren die Paresen stark und endeten mit dem Tode, bei dem einen Falle war sie mittelstark und wurde im Verlaufe von 11 Tagen geheilt.

Die 5 Versuchsthiere, denen fünf Mal 24 Stunden nach der Toxoninjection eine ca. 21000 Mal neutralisirende Menge Antitoxin injicirt wurde, bekamen 16 bis 29 Tage darauf alle Paresen. Bei dreien der Thiere waren die Paresen so stark, dass sie letal endigten, bei zweien waren sie mittelstark und wurden im Laufe von 7 bis 11 Tagen geheilt.

Das Obige kann in Folgendem zusammengefasst werden:

Wenn man 24 Stunden, nachdem die Toxoninjectionen vorgenommen worden sind, grosse Mengen Antitoxin injicirt, ist es in den meisten Fällen möglich, das Eintreten der Paresen zu verhindern.

Injicirt man das Antitoxin erst zwei Mal 24 Stunden nach dem Toxon, so sieht man, dass die meisten Thiere eine Parese bekommen, die jedoch viel später eintritt als bei den Controlthieren und immer mit Genesung endigt.

Macht man die Antitoxininjection vier oder fünf Mal 24 Stunden, nachdem das Toxon injicirt wurde, spürt man noch deutlich eine günstige Wirkung. Es ist wohl wahr, dass alle Thiere eine Parese bekommen, sie ist aber nicht immer, wie die der Controlthiere, tödtlich und die Incubationszeit ist bedeutend verlängert.

Wir können natürlich nicht die oben erwähnten Kaninchenversuche, wo die Injectionen intravenös vorgenommen wurden, mit diesen Meerschweinchenversuchen, wo die Mischungen subcutan applicirt wurden, ohne Weiteres vergleichen. Doch können wir wohl sagen, dass, während aus den Kaninchenversuchen hervorgeht, das Toxon 16 Stunden nach der Injection aus dem Kreislauf verschwunden ist, sieht man aus den Meerschweinchenversuchen, dass noch nach 24 Stunden es gelingt, die Thiere zu retten.



Man scheint dann berechtigt zu sein, hier von einer wirklichen Heilung zu sprechen, insofern man unter Heilung versteht, dass man im Stande ist, das Gift, das man als an die Gewebe gebunden annimmt, unschädlich zu machen.

Wenn wir nun diese Heilversuche mit Toxon mit jenen vergleichen, die Dönitz mit Toxin gemacht hat, so sehen wir, dass Dönitz wohl auch im Stande war das Toxin, das man als im Organismus gebunden annehmen musste, unschädlich zu machen, was aber nur ganz kurze Zeit nach der Toxininjection zu erreichen war; schon $1^1/_2$ Stunden nach der Injection war es ihm unmöglich, sogar bei Benutzung einer sehr bedeutenden Menge Antitoxin, die Thiere zu retten.

Wenn wir nun unsere jetzigen Kenntnisse in Bezug der Avidität und Bindungsverhältnisse der Gifte zusammenfassen, finden wir ein schönes Uebereinstimmen zwischen den zwei in dieser Richtung am gründlichsten untersuchten Giften, dem Diphtheriegift und dem Tetanolysin.

Das Toxin des Diphtheriegiftes mit den acut wirkenden Eigenschaften wird beinahe augenblicklich nachdem, es in den Kreislauf eingeführt worden ist, zum Organismus gebunden und nur ganz kurze Zeit darauf kann es unschädlich gemacht werden. Das nur wenig avide Toxon mit seinen tardiven Eigenschaften verschwindet dagegen langsamer aus dem Blute und noch 24 Stunden nach der Injection kann es vom Antitoxin unschädlich gemacht werden.

In Bezug auf das Tetanolysin hat Madsen[1] durch directe Versuche, den Aviditätsunterschied zwischen dem Toxin und dem Toxon zeigen können, indem er fand, dass die Reactionsgeschwindigkeit zwischen dem Toxin und dem Antitoxin mehr als 50 Mal grösser ist als zwischen dem Toxon und dem Antitoxin. Das Toxin des Tetanolysin[2] übt eine sehr energische Wirkung auf die rothen Blutkörper aus, wirkt bei jeder Temperatur zwischen 0° und 37° und wird sehr rasch von den rothen Blutkörpern gebunden. Das Toxon dagegen hat eine viel schwächere Wirkung, erfordert eine Temperatur von über 10°, damit sich seine hämolytischen Eigenschaften entwickeln können, und wird circa 3 Mal weniger stark an die Erythrocyten gebunden als das Toxin.

[1] Mitgetheilt auf dem XIII. intern. medicin. Congress zu Paris 1900.
[2] Ueber Tetanolysin. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXII. S. 214.



[Aus dem chemisch-bakteriologischen Laboratorium von Dr. Serkowski in Lodz.]

Einfaches Mittel zur Bestimmung des Salzgehaltes in der Butter.

Für praktische Zwecke. Zugleich ein Fingerzeig zur Bestimmung des darin enthaltenen Margarins.

Von

Dr. phil. **B. Orzechowski.**

Wie bekannt, hängen die hygienischen Eigenschaften einer guten Butter von dem in ihr (quantitativ und qualitativ) enthaltenen Fett, Wasser, Kochsalz und Eiweisssubstanzen ab. Der Inhalt von Salz in den verschiedenen Gattungen der Butter schwankt in den Grenzen von 0 bis 6 Procent. Um aber ihrem Product ein grösseres Gewicht zu geben, fügen die Verkäufer demselben eine grosse Menge von Salz in Combination von Eis und Wasser hinzu. Die auf solche Art erhaltene gesalzene Butter ist scheinbar billiger, in Wirklichkeit aber theurer als die ungesalzene. Da es bis jetzt kein Mittel gab, ausserhalb des Laboratoriums den Salzgehalt durch Gesundheitsbeamte auch in der häuslichen Wirthschaft zu bestimmen, so habe ich mich auf Initiative von Dr. Serkowski mit dieser Angelegenheit beschäftigt und fand dabei eine einfache Methode, wodurch man sowohl den Salzprocentsatz wie auch die qualitativen Eigenschaften des Margarins oder anderer Fette in der Butter nachweisen kann.

Die beigefügte Zeichnung stellt einen gläsernen Apparat in Gestalt eines Röhrchens dar, dessen unterer Theil sich verengt und in einer Scala von 0 bis 10 den Procentsatz anzeigt; *B* stellt einen ausgehöhlten Deckel dar, welcher genau in die Oeffnung des Apparates *A* hineinpasst. Der Inhalt des Gefässes *B* enthält 3 ^{grm} Butter bei Zimmertemperatur.

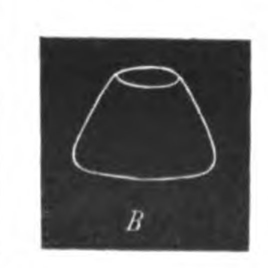


Die Art des Verfahrens beruht auf der Eigenschaft, dass das Fett der natürlichen Kuhbutter sich leicht in einer Mischung von Alkohol und Aether auflöst: 1 grm Butter wird in 3 ccm der entsprechenden Mischung aufgelöst, während 1 grm anderer Fette, wie Margarin, zerlassenes Schweinefett und dessen Mischung mit Butter sich erst bei 6 bis 150 ccm auflösen. Wenn wir also zur Lösung das minimale und nur nöthige Quantum Flüssigkeit nehmen, d. h. auf 1 grm 3 ccm, so erhalten wir eine ganz durchsichtige Lösung. Bei einer nur kleinen Beimischung von anderen Fetten erscheint diese Lösung trübe, undurchsichtig, und bedeutendere Beimischungen bilden ausser der Trübung sogar einen dünnen Bodensatz. Die schwach alkalische Reaction der Mischung beugt einer Coagulation des Caseïns vor, welches sich in geringem Procentsatz (0·6 Procent) in der Butter befindet.

Gleichzeitig sondert sich bei der Lösung der Butter das Kochsalz ab in Gestalt von krystallisirtem Pulver, welches wir colorimetrisch messen.

Art der Anwendung.

I. Den Deckel *B* füllen wir bei Zimmertemperatur dicht mit Butter aus, machen die Oberfläche mit einem feuchten Messer gleich, drehen ihn um und legen denselben auf den Apparat *A*, darauf erwärmen wir langsam den ganzen Obertheil desselben, bis die Butter ganz aus *B* hinabfliesst. Wir nehmen den Deckel herunter, giessen in das Röhrchen eine schwach alkalisirte Mischung von reinem Alkohol mit Aether (im Verhältniss von 3 : 7) bis zum Strich *d*. Darauf lassen wir den Apparat in senkrechter Lage einige Minuten in Ruhe und lesen dann von der Scala den Procentsatz des in der Butter enthaltenen Salzes wie auch das Quantum des Bodensatzes ab.



II. Der obere flüssige Theil zeigt uns, so weit derselbe klar ist, die natürliche Butter, der mehr oder weniger trübe, undurchsichtige Theil — den grösseren oder kleineren Procentsatz fremder Fette.

Angesichts der Schwierigkeiten, welche die Untersuchung der Butter im Allgemeinen beim Mangel genauer Methoden von ganz richtigen Bestimmungen des in der Butter enthaltenen Margarins bietet, scheint es mir, dass diese Art praktische Verwendung sowohl in den häuslichen Wirthschaften, wie auch bei den Sanitären finden kann.

Heute sind nicht nur nicht die Dörfer und kleinen Städte, sondern auch die grösseren, welche gut eingerichtete hygienische Anstalten besitzen, nicht im Stande, überall Fälscher von Esswaaren zu entdecken, weil die Untersuchungen dort bei einer verhältnissmässig nur geringen Anzahl von Objekten stattfinden. Das beschriebene Mittel, scheint mir, wird den wichtigen hygienischen Aufgaben Genüge leisten, weil dasselbe in Folge seiner Einfachheit jeder Wirthin, jedem Sanitär erlaubt, in einigen Minuten deutlich zu bestimmen, ob und um wieviel eine Butter beschwert und gefälscht ist. Ich glaube, dass die Bearbeitung praktischer Hausmittel, um die Essprodukte oder Nahrungsmittel zu untersuchen, in dem Bereich der Hygiene liegen muss.



[Aus dem chemisch-bakteriologischen Laboratorium von Dr. Serkowski in Lodz.]

Von der bakteriologischen Untersuchung des Fleisches in den Läden und Fleischbänken von Lodz.

Von

Dr. A. Tumpowski.

Da ich in der ausländischen Presse immer zahlreicheren Beschreibungen von Krankheiten und sogar Epidemieen, welche durch den Genuss frischen, aber durch verschiedene Bakterien inficirten Fleisches hervorgerufen wurden, begegnet bin, so habe ich bakteriologische Untersuchungen des Fleisches aus den Schlachthäusern, Läden und Fleischbänken vorgenommen. Ich muss aber betonen, dass es sich mir bei dieser Arbeit nicht um die chemische Untersuchung verschiedener Fermentationsphasen und Fäulniss, in welcher sich das Fleisch befinden konnte, handelte. Diesen verschiedenen von Eber classificirten Phasen entspricht der verschiedene Fäulnissgrad; dies schliesst jedoch nicht die Möglichkeit aus, dass im unveränderten, d. h. im frischen Fleische auch krankheitserregende Keime sich befinden können. Der Zweck meiner Untersuchungen beruhte daher nicht auf der Bestimmung des Fäulnissgrades, sondern auf der Feststellung, ob das Fleisch in den hiesigen Fleischbänken und Räucherwaarenhandlungen „augenscheinlich ganz frisch“, nicht dennoch krankheitserregende Keime enthält.

Dass das hiesige Fleisch zuweilen verdächtig ist, wusste ich vorher. Im Sommer vorigen Jahres z. B. constatirte College Serkowski in dem Stuhl eines an heftigen Durchfall erkrankten Mädchens eine unzählbare Menge von Larven der sogenannten Sarcophaga carnaria, und unlängst auf einer zur Untersuchung gesandten Hasenleber — Distomum hepaticum. Aus eigener Beobachtung erinnere ich mich zweier Fleischerläden,

in welchen ich folgende Verhältnisse antraf: im ersten Laden war der beim Verkauf und Zerhacken des Fleisches beschäftigte Besitzer von der Gonorrhoea befallen, die im Nebenzimmer sich befindenden Kinder aber von der Ophtalmia blenorrhoica; im Nebenzimmer des zweiten Ladens lag eine in den letzten Stadien der Lungenschwindsucht leidende Frau. Ausserdem wurde in der Mundhöhle eines im Laboratorium beschäftigten Arztes durch Züchtung einer krankheitserregenden Gattung der Proteus vulgaris constatirt, welcher, wie bekannt, die Ursache vieler Krankheiten ist, und welcher, wie weiter unten gezeigt werden wird, grosse Beziehung zum Lodzer Fleische hat.

Sowohl theoretische, wie auch rein praktische Rücksichten waren daher die Veranlassung meiner Untersuchungen, deren erste Serie ich weiter unten anführe. Ich brauche wohl nicht hinzuzufügen, dass das Impfen der Fleischbakterien mit Beobachtung aller möglichen aseptischen Vorsicht stattfand, und dass gleichzeitig der Controle wegen die Luft in einigen Läden wie auch im Laboratorium untersucht wurde.

Nr.	Gattung des Fleisches	Woher genommen	Bakterienarten
1	Rindfleisch	aus der Fleischbank von der Mikolajewska Strasse	Proteus vulgaris.
2	Rindfleisch	aus den Fleischbänken auf dem Ringe (Markte)	Bacillus mycoides.
3	Zu Coteletten gehacktes Fleisch	aus einer Räucherwaarenhandlung (Petrik. Strasse)	Sarcina alba, Sarcina lutea, Bacillus subtilis.
4	Bratwurst	aus einem Laden, Strasse Nawrot	Proteus vulgaris, Bacillus subtilis, Schimmel.
5	Gehacktes Fleisch zu Coteletten	aus einer Räucherwaarenhandlung in der Nähe des Neuen Ringes	Micrococcus tetragenus, Schimmel.
6	Würstchen, sogen. serdelki	aus einer Räucherwaarenhandlung, Petrik. Strasse	Bacillus subtilis, Sarcina lutea, Schimmel.
7	Schinken	aus einem Fleischerladen in der Bahngegend	Micrococcus albatus, Kern.
8	Bratwurst	aus einem Fleischerladen in der Milschstrasse	Proteus vulgaris, Bacillus mesentericus vulgatus, Bacillus fluorescens liquef.

Bei acht Untersuchungen während der Winterszeit waren daher 4 Mal, sage vier Mal, krankheitserregende Bakterien vorhanden.

In der Luft des Schlachthauses dagegen fand ich (die Doppelplatten Petri's waren während des Schlachtens geöffnet) den Diplococcus pneumoniae Fraenkeli, welcher tinctoriell und culturell constatirt wurde. In reinen



Culturen konnte ich ihn aber wegen allzuschneller Vermehrung der peptonisirenden Bakterien nicht züchten.

Um dieses Resultat zu erklären, erlaube ich mir die Bedeutung der einzelnen Bakterienarten, welche von mir gefunden wurden, in Kurzem darzulegen. Ich beginne mit dem Proteus vulgaris, welcher drei Mal vom Fleisch isolirt wurde. Die wichtigste der Eigenschaften dieses Mikroorganismus ist der Umstand, dass die von ihm erzeugten Toxine während des Kochens des Fleisches nicht verschwinden, und dass in den späteren Phasen der Fäulniss statt schädlicher unschädliche Producte erscheinen. Es können daher im scheinbar frischen Fleische diese Bakterien Veränderungen hervorrufen, welche für den menschlichen Organismus äusserst schädlich sind, Veränderungen, auf welche sogar das Kochen keinen Einfluss ausübt.

Der Proteus vulgaris kann hervorrufen: Cystitis (Schnitzler), Pyaemia (Neumann), Oophoritis (Welen), Pleuritis (Charin), Cholera infantum (Booker) u. s. w. — Jäger hält diese Bakterienart für die Ursache der Weil'schen Krankheit, und Posner und Cohn[1] schreiben dem Proteus vulgaris gleichzeitig mit Colonbacillen eine Hauptrolle bei der Erkrankung der Harnorgane zu.

In letzter Zeit hat man vielmals auf Proteus vulgaris als die Hauptursache bei Fleischvergiftungen hingewiesen. Levy, Jäger, Wesenberg, Silberschmidt und Glücksmann beschrieben die durch Mikroorganismen hervorgerufenen Epidemieen.

In einer Ortschaft der Schweiz erkrankten laut der Untersuchungen von Silberschmidt[2] bald nach dem Genusse einer Bratwurst 45 Personen, von denen eine bald darauf starb. Die chemische Analyse führte zu keinem Resultate, dagegen zeigte die bakteriologische Untersuchung in der Wurst den Proteus vulgaris. Nach dem Genusse eines kleinen Stückchens Schweinefleisches, wie Sig. Glücksmann[3] aus Zürich mittheilt, erkrankten zwei Personen schwer, von denen eine unter Erscheinungen der Gastroenteritis acuta nach zwei Tagen starb. Glücksmann sagt: Die Untersuchung des Fleisches ergab das Vorhandensein des Bacillus proteus vulgaris, der neben seinen Stoffwechselproducten die Erkrankung und den Tod der betreffenden Person verursachen konnte (a. a. O. S. 700).

Proteus vulgaris, welcher sich im Stuhle erwachsener Menschen vorfindet, wird nicht im Stuhle gesunder Säuglinge angetroffen; es scheint, er spielt eine grosse Rolle bei Krankheiten des Verdauungscanals der

[1] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1900. Nr. 31.
[2] *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXX. S. 328.
[3] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Bd. XXV. S. 696.

Säuglinge. So behaupten Baginsky, Booker u. A. — Lesage fand sehr oft in dem Stuhle der Säuglinge, bei welchen er den Fleischgenuss nachweisen konnte, den Proteus. Booker beschreibt Gastroenteritis ex proteo vulgari; derselbe Forscher fand diesen Mikroben in stadio stuporoso der acuten Kindercholera (Cholerae acutae infantum).

Wir wollen hier die besprochene Bakterie nicht näher beschreiben, sondern beschränken uns mit dem Hinweis auf die umfangreiche Monographie von L. Feltz[1], welche ganz speciell die Wege angiebt, durch welche dieser in den Organismus gelangt und Störungen in demselben hervorrufen kann. Ich füge noch hinzu, dass der vom Fleische Nr. 1 erhaltene Proteus unter die Haut eines Meerschweinchens geimpft wurde; an der Stelle des Impfens entstand ein Geschwür, in dem ich ausser Fäulnisskeimen auch typische Proteusstäbchen fand, welche sich nach Gram färbten und welche ich durch Culturen wieder absondern konnte.

Den im gehackten Fleische gefundenen Micr. tetragenus Gaffky zählen gegenärtig die Bakteriologen zu den fäulnisserregenden Mikroorganismen und schreiben ihm eine grosse Bedeutung bei der Lungenschwindsucht zu. Fest steht, dass er auch in der Mundhöhle, obwohl er bei erwachsenen Personen angetroffen wird, ernste Störungen hervorrufen kann. So fand z. B. Lartigan[2] diese Tetraden in reinen Culturen in einem Falle bei Angina acuta, und in zwei anderen Fällen in Zusammensetzung mit Staphylococcus albus und Colonbacillus; mit diesen Tetraden impfte er Kaninchen und Meerschweinchen und rief auf diese Weise bei diesen Thieren tödtliche Störungen hervor.

Aus Obigem sehen wir daher, dass das Fleisch, welches wir geniessen, keineswegs vor krankheitserregenden Bakterien geschützt ist. Diese Angelegenheit ist viel zu ernst, dass man dabei gleich zur Tagesordnung übergehen könnte; man muss deshalb durchaus erwägen, auf welche Weise man das Fleisch vor den schädlichen Keimen schützen kann.

Die Sache wird bedeutend klarer, wenn wir erwähnen, dass andere aufgefundene Bakterien, besonders fäulnisserregende, zahlreich in der Erde, im Wasser und in der Luft bezw. im Staube vorkommen, und wenn wir uns mit eigenen Augen überzeugen wollen, wie ein Schlachthaus aussieht, und welche hygienischen Verhältnisse in unseren Fleischbänken und Rauchwaarenhandlungen existiren. Wahrlich, bessere Verhältnisse giebt es in anderen grossen Städten auch nicht.

Treten wir in irgend eine Fleischbank von Lodz und Warschau, — und unseren Augen stellt sich Folgendes dar: In einer schmutzigen und

[1] *Le Proteus vulgaris.* Paris 1900.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1900. Bd. XXXIII. Nr. 12/13. S. 393.



mit Blut befleckten Schürze hackt der Fleischer das Fleisch auf einem Block, welcher ganz durchzogen und durch viele Jahre immer mit neuer Nahrung zur Entwickelung der Bakterien genährt wird — mit Blut. An den Wänden hängen oder stehen, an dieselben gelehnt, grosse Stücke Fleisch, welche begierig von einer hungrigen, sich stets bei den Fleischbänken aufhaltenden Schaar von Hunden beleckt werden, und diese Fleischbänke stehen immer offen. Kann man sich daher wundern, dass von dem Block, von der Schürze, von dem Staube, von der mit Blut bespritzten Erde, von der Kleidung der kaufenden Köchinnen, von den Händen des Fleischers, von dem Maule der Hunde und von den Insecten nicht nur fäulniss-, sondern auch krankheitserregende Bakterien auf dem Fleische entstehen? Zeiget mir in Lodz wenigstens nur eine Fleischbank, welche gross und geräumig, gelüftet und mit Eiskästen und mit einem entsprechenden Fussboden versehen wäre, deren Besitzer eine ordentliche und reinliche Schürze hätte, und der wenigstens für die Reinlichkeit der eigenen Hände besorgt wäre.

Krankheitserregende Bakterien giebt es also auch, wie wir aus obiger Tafel gesehen haben (bis zur Erbauung eines neuen Schlachthauses) in dem jetzigen Schlachthause, wo die Scenen der Unreinlichkeit und des Schmutzes bis zur Unglaublichkeit, wie auch in den Fleisch- und Wurstgeschäften weiter fortdauern werden. Aber auch über dieses Factum werden wir aufhören, uns zu wundern, wenn wir uns aufmerksam die Mädchen betrachen, welche zwar frisirt sind, aber gleichzeitig „Trauer unter den Nägeln tragen", und welche oft gerade während des Schneidens auf das Fleisch husten (Micr. tetragenus?) und welche dasselbe in verdächtiges Papier wickeln. Nirgends ist ein Eiskasten, nirgends Ventilation, nirgends Lüftung.

Natürlich kann es auch vorkommen, dass das Fleisch durch Mikroorganismen ohne und gegen den Willen des Verkäufers inficirt wird, wenn auch nur in Folge ungenügenden Salzens oder unverständigen Räucherns desselben[1].

Ich glaube, dass die Resultate meiner wenigen Untersuchungen eines gewissen praktischen Werthes nicht entbehren, besonders für Lodz, Angesichts der sehr verbreiteten Gewohnheit, das Fleisch roh oder nur halbgekocht zu geniesen. Ohne die Absicht zu haben, die Facta zu überschätzen, nehme ich doch an, dass die Untersuchungen im Sommer sehr belehrende Resultate geben können.

[1] Näheres im Buche: *Der Laien-Fleischbeschauer.* Berlin 1901.

[Aus dem Institut für Hygiene und der medicinischen Klinik der Universität Strassburg.]

Ein Beitrag zur Aetiologie der Weil'schen Krankheit.

Von

Dr. **H. Conradi,** Assistenten des Instituts, und Dr. **Hans Vogt,** Assistenten der Klinik.

Nachdem Weil (1, 1886) auf Grund klinischer Erfahrung aus der Gruppe des katarrhalischen Icterus und des fieberhaften Magen-Darmkatarrhs ein leidlich scharf begrenztes, später nach ihm benanntes Krankheitsbild herausgehoben hatte, suchte Jäger (2, 1893) durch den Nachweis des Bacillus proteus fluorescens auch die ätiologische Einheit der neuen Krankheit zu begründen. Jäger gelang es nämlich in vier Fällen klinisch unanfechtbarer Weil'scher Krankheit, aus dem Urin der Patienten — in zwei zur Obduction gelangten Fällen auch aus den Organen — den genannten Bacillus in Reincultur zu züchten. Banti (3) bestritt wenig später die Allgemeingültigkeit des Jäger'schen Befundes, weil er in einem leichten Falle von infectiösem Icterus aus dem durch Punction erhaltenen Milzblut eine dem Friedländer'schen Bacillus nahestehende Bakterienart isolirt hatte, die er mit dem Namen Bacillus icterogenes capsulatus belegte; Jäger (4) möchte allerdings auch jenen Fall sowie einen weiteren zur Autopsie gelangten Fall von infectiösem Icterus eigener Beobachtung als Proteusinfection aufgefasst wissen. Sehen wir von einer flüchtigen Angabe Pfaundler's (5) ab, so sind uns keine weiteren Bakterienbefunde bei Weil'scher Krankheit bekannt geworden.

Eine Fortführung der Jäger'schen Untersuchungen erscheint aber um so mehr geboten, als erst durch die Feststellung des Krankheitserregers die Specifität einer Infectionskrankheit erwiesen wird.



Daher möchten wir über einen bakteriologisch genauer untersuchten Fall von Weil'scher Krankheit berichten. Es liegt zwar nicht in der Absicht dieser Arbeit, auf eine klinische Betrachtung des Falles einzugehen, doch soll ein kurzer Krankenbericht vorausgeschickt werden.

Der Metzgergeselle E. F. wurde am 16. X. 1900 in's Spital aufgenommen, nachdem er 5 Tage zuvor unter Schüttelfrost, hohem Fieber, Kopfschmerzen und Schmerzen in den Waden erkrankt war. Dabei bestand angehaltener Stuhlgang, seit 2 Tagen auch Gelbsucht.

Kräftiger Mann, sehr stark ikterisch, deutlich benommen; Brustorgane normal. Abdomen etwas aufgetrieben; Leber vergrössert, empfindlich gegen Druck. Milz mässig vergrösser. Stuhlgang entfärbt. Urin enthält Gallenfarbstoff, Eiweiss, mikroskopisch spärliche hyaline Cylinder, Nierenepithelien und rothe Blutkörperchen. Temperatur subfebril, fällt am neunten Krankheitstage zur Norm ab, um nach 8tägigem Intervall wieder für mehrere Tage bis auf 38° anzusteigen. Es finden sich also in diesem Falle alle charakteristischen Symptome der Weil'schen Krankheit, nämlich fieberhafter Icterus mit Benommenheit, Albuminurie, Milzschwellung, Muskelschmerzen und das Auftreten eines Recidivs.

Die am 19. X. zum ersten Mal vorgenommene bakteriologische Untersuchung erstreckte sich auf Blut, Urin und Fäces des Patienten. Das Blut wurde steril der Armvene entnommen und wenige Tropfen in einem Bouillonkolben von 500 ccm Inhalt eingebracht. Hiervon wurden 5 ccm in weitere 500 ccm Bouillon übertragen und daraus ebenso 3. und 4. Verdünnung angefertigt. Dies umständliche Verfahren wurde eingeschlagen, um eine baktericide Wirkung des Blutes nach Möglichkeit auszuschalten. Allein in sämmtlichen bei 37° während mehrerer Wochen aufbewahrten Bouillonkolben blieb jedes Wachsthum aus. Auch die mittels Paraffinüberschichtung luftdicht abgeschlossene Bouilloncultur erwies sich als steril. Eine Wiederholung der Blutuntersuchung am 22. und 29. X. lieferte abermals kein Ergebniss. Jäger vermochte übrigens ebenso wenig, wie wir, aus dem Blut seiner Patienten eine pathogene Bakterienart zu züchten. Dagegen gingen auf den am 18. X. aus der Mitte der gallefreien Fäces angelegten Agar- und Gelatineplatten nach 24 Stunden neben spärlichen Colibacillen zahlreiche, typische, gelatineverflüssigende Proteuscolonieen auf. Schon die ersten Ausstrichpräparate sowie die Untersuchung im hängenden Tropfen liessen reichliche, äusserst bewegliche kurze Stäbchen erkennen, die hie und da zu längeren Fäden ausgewachsen waren. Die auf den verschiedenen Nährböden angelegten Culturen stellten alsdann die Gegenwart des Proteusbacillus sicher. Auch bei den am 22. und 30. X. wiederholten Abimpfungen aus den Fäces wurden fast ausschliesslich Proteusbacillen neben vereinzelten Colicolonieen aufgefunden. Wir möchten diesen Befund um so mehr hervorheben, als Jäger in seinen Fällen die Resultate der bakteriologischen Untersuchung der Fäces nicht mitgetheilt hat.



Die Untersuchung des Urins geschah folgendermaassen: Am 20. X. wurde mittels sterilen Katheters dem Patienten Urin entnommen und ausschliesslich die zweite Portion untersucht. Von dem abcentrifugirten Sediment legten wir wieder Gelatine- und Agarplatten mit Verdünnungen an. Auf den drei ersten Platten kamen durchgehends zahlreiche Proteuscolonieen auf, während die letzten Verdünnungen steril blieben. Nach 3 Tagen stellte sich zuerst bei den bei 24° gehaltenen, völlig verflüssigten Gelatine-, später auch bei den bei 37° aufbewahrten Agarplatten eine lebhafte, grüne Fluorescenz ein. Damit war der Befund von Bacillus proteus fluorescens in dem vorliegenden Falle sichergestellt. Die am 22. X. wiederholte Urinuntersuchung ergab nochmals die ausschliessliche, reichliche Anwesenheit von Bacillus proteus fluorescens. In dem Sediment waren die Bacillen jedes Mal, in kleineren Häufchen zusammenliegend, schon mikroskopisch wahrnehmbar.

Die aus den Fäces des Patienten isolirten Proteusbacillen bewirkten keine Fluorescenz ihres Nährsubstrats. Wir gehen zwar nicht so weit, in dem Mangel eines fluorescirenden Farbstoffes bei den Fäcesbakterien ein besonders charakteristisches Merkmal gegenüber den Urinbakterien zu erblicken, möchten jedoch auch nicht die Identität jener Bakterien als erwiesen ansehen. Wie neuerdings Kuntze (6) in einer sorgfältigen Arbeit für den Bacillus prodigiosus zeigte, genügt schon der minimale Zusatz von Magnesiumsulfat zum Nährsubstrat, um Farbstoffbildung Seitens der vorher pigmentlosen Mikroben hervorzurufen. Vielleicht wird die spätere Forschung auch die Bedingungen näher klarlegen, unter welchen der Proteusbacillus zur Bildung eines fluorescirenden Farbstoffs schreitet. Uebrigens wies auch der zur Anreicherung in den Brütschrank bei 24° gestellte Urin des Patienten nach einigen Tagen lebhafte, grüne Fluorescenz auf.

Bevor wir auf die morphologischen und biologischen Verhältnisse des in Rede stehenden Bacillus eingehen, möchten wir kurz über die Agglutinationsprüfung bei unserem Patienten berichten. Bei der am 19. X. vorgenommenen Untersuchung besass das Blutserum in einem Verhältniss von 1:30 weder eine agglutinirende noch paralysirende Kraft gegenüber dem aus Fäces isolirten Proteusbacillus, wenn eine fünfstündige, bei 37° gewachsene Bouilloncultur desselben in Anwendung kam. Ebensowenig stellte sich später eine „Fadenreaction" ein. Die nochmals am 29. X. wiederholte Agglutinationsprüfung des Blutes führte zum gleichen Ergebniss, auch dann, als die aus dem Urin gezüchteten Proteusbacillen mit dem Serum zusammengebracht wurden. Leider war es nicht möglich, während des fieberfreien Intervalles und nach Eintritt der Reconvalescenz die agglutinirende Kraft des Blutes zu messen. Spätere Untersuchungen werden



zu entscheiden haben, ob das Fehlen der Agglutination bei der Weil'schen Krankheit Regel oder Ausnahme bildet.

Was die morphologischen Eigenschaften des Bac. proteus fluorescens angeht, so können wir uns darüber kurz fassen, da bereits Jäger eine sehr gründliche Beschreibung geliefert hat. Die Nachprüfung hat eine Bestätigung der Jäger'schen Befunde bis auf geringfügige Abweichungen ergeben. Das Wachsthum in der Bouillon, im Gelatinestich und auf Agar, das Aussehen der Gelatine- und Agarplatten, die Eigenbewegung, die Fluorescenz, die Art der Begeisselung, die Tinctionsverhältnisse, die Entfärbbarkeit mittels der Gram'schen Färbung entsprachen durchgehends der von Jäger gelieferten Darstellung. Insbesondere soll hervorgehoben werden, dass auf Gelatine- und Agarplatten bei 60facher Vergrösserung neben zarten, farblosen, gelappten Colonieen ganz besonders solche anzutreffen waren, welche an der Peripherie zahlreiche, unregelmässige, schnörkelartige oder spiralig gewundene Fortsätze besassen. Auch wurde bisweilen ein deutliches Ausschwärmen der Randpartieen mit nachfolgender Abschnürung und Inselbildung beobachtet. Eine Trennung zwischen gelatineverflüssigenden und -nichtverflüssigenden Proteusindividuen, nach dem Vorgang von Jäger, vermochten wir nicht durchzuführen. Wohl zeigten sich erhebliche Unterschiede in der Geschwindigkeit, mit der die einzelnen Gelatineculturen verflüssigt wurden. Sie nahm beträchtlich zu, wenn der Bacillus wiederholt den Thierkörper passirt, und ebenso, wenn die betreffende Cultur längere Zeit hindurch bei 37° gestanden hatte. Dieser Temperaturgrad stellt ja nach den Untersuchungen von Macfadyen (7) das Optimum für die Bildung der proteolytischen Bakterienfermente dar. Unter keinen Umständen aber büssten Proteusindividuen ihre gelatineverflüssigende Eigenschaft dauernd ein. Hingegen konnten wir uns wie Jäger, wenigstens in seinem letzten, veröffentlichten Falle, von der sehr deutlichen Kapselbildung der aus den Organen, dem Blut und den Exsudaten der Versuchsthiere herstammenden Bacillen überzeugen. Besonders schöne Kapseln fanden sich in den der Bauchhöhle entnommenen Exsudaten, die von Proteusbacillen geradezu wimmelten. In den Culturen dagegen liessen sich mit Hülfe der üblichen Methoden keine Kapseln zur Darstellung bringen. Neuerdings hat Pfuhl (8) bei einem typischen Proteusbacillus, den er aus einem Falle von Fleischvergiftung isolirt hatte, in den Organen von inficirten Goldfischen deutliche Kapseln wahrgenommen. Gegenüber der von Banti[1] vertretenen Anschauung sind diese Boebachtungen besonders nachdrücklich hervorzuheben. Das Wachsthum unseres Bacillus unter anäroben Verhältnissen fiel recht dürftig aus. Im

[1] A. a. O.



hohen Agarstich, in Wasserstoffatmosphäre, in der Buchner'schen Röhre kamen die Mikroben nur kümmerlich fort. Auch die in Eiern vorgenommene Züchtung gab keine anderen Resultate. Der Entdecker des Proteusbacillus, Hauser, führt bereits an, dass sein Bacillus bei Sauerstoffabschluss schlecht gedeiht. Die Wachsthumsgrenzen lagen für unseren Bacillus zwischen 16 und 24°. Innerhalb dieser Temperaturgrade fand auch die intensivste Farbstoffbildung statt. Oberhalb von 45° blieb jede Entwickelung aus. Hingegen zeigte unser Bacillus bei Eisschranktemperatur (4 bis 6°) sowie auch bei 0° ein allerdings verlangsamtes Wachsthum. Er bewirkte sogar bei 0° eine lebhafte, blaugrüne Fluorescenz seines Nährmediums und verflüssigte nach zweiwöchentlichem Aufenthalt bei 0° den untersten Theil der Gelatine. Als die betreffenden Gelatineröhrchen aus dem Eisbehälter heraus in Zimmertemperatur verbracht wurden, nahm hier die Verflüssigung einen so rapiden Fortgang, dass innerhalb weniger Stunden die Gelatine vollkommen flüssig wurde. Man könnte sich die Vorstellung bilden, dass jene schnelle Verflüssigung durch verdauende Fermente bewirkt wurde, welche zwar bei 0° gebildet und angehäuft, in ihrer Wirksamkeit aber gehemmt wurden.

Die von Jäger als geradezu charakteristisch angegebene bleigraue Verfärbung der Kartoffel haben wir vermisst. Bei unserem Bacillus zeigte die Kartoffelkultur wenig Bemerkenswerthes, einen nicht sehr üppigen, gelblichgrauen Rasen, ohne Fluorescenz. Letztere war auch nicht durch Ammoniakzusatz hervorzurufen, ebensowenig wie die von Ernst (9) bei dem Bac. pyocyaneus beobachtete Chamäleonreaction. Ferner bewirkte unser Bacillus im Gährungsröhrchen keine Gasbildung weder in traubenzucker-, rohrzucker-, noch milchzuckerhaltiger Bouillon. Jäger hat die Gasbildung nicht näher untersucht und führt nur gelegentlich an, dass sein Bacillus auf Agar und Gelatine Gasblasen bildete. Weiterhin entbehrte der von uns gezüchtete Mikroorganismus des für Proteusbacillus so charakteristischen, intensiven Fäulnissgeruches. Auch bei Cultur auf Eiereiweissnährböden, sowie auf coagulirtem und in flüssigem Blutserum verschiedener Thierarten trat keine stinkende Fäulniss ein. Demgemäss war die Schwefelwasserstoffbildung nur gering, und Indol und Phenol konnte in keinem Falle nachgewiesen werden. Ebenso fiel die Tryptophanreaction, auch bei älteren Bouillonculturen, negativ aus. Allerdings bildete sich bei Bromwasserzusatz ein gelblicher Niederschlag, der nach einiger Zeit eine Orangefarbe annahm.

Etwas eingehender wurden die fermentativen Leistungen des Bacillus proteus fluorescens berücksichtigt. Die moderne Bakteriologie hat sich zwar vorzugsweise der Erforschung der toxischen Stoffwechselproducte der Mikroorganismen zugewandt. Vielleicht dürfte sich aber in der Folge-



zeit herausstellen, dass auch die nähere Kenntniss der Bakterienfermente ein tieferes Verständniss des Infectionsvorganges vermitteln hilft.

In älteren, bei 37° gewachsenen Bouillonculturen des Bacillus proteus fluorescens liess sich ein tryptisches Ferment in ansehnlicher Menge nachweisen. Tödtete man nämlich durch Zusatz von Senföl oder durch 2' langes Erhitzen bei 60° vorsichtig die Bacillen ab und gab sterile Fibrinflöckchen in die Nährflüssigkeit hinein, so waren diese bereits nach 24stündigem Aufenthalt bei 37° bei alkalischer Reaction recht beträchtlich angedaut. In Uebereinstimmung damit wurde die Gelatine, wie bereits erwähnt, meist recht stark verflüssigt, und ebenso fiel das coagulirte Blutserum von verschiedenen Thierarten, wie Rind, Pferd u. s. w., einer ziemlich schnellen Auflösung anheim. Auch das Paracaseïn der Milch wurde verhältnissmässig rasch angegriffen. Bei vergleichenden Untersuchungen über die Wirksamkeit des proteolytischen Fermentes des Bacillus proteus fluorescens und eines aus faulem Fleisch gezüchteten Proteusbacillus, die mittels der Mett'schen Röhrchen vorgenommen wurden, stellte sich die sichtlich stärkere proteolytische Kraft des ersteren gegenüber dem letzteren heraus. Neben einem tryptischen — wurde bei unserem Bacillus auch ein Labferment ermittelt. Wenn man Bouillonculturen des Bacillus proteus fluorescens einige Tage hindurch am besten bei 16 bis 18° hält und geringe Mengen der alkalisch reagirenden Bouillon frischer Kuhmilch zusetzt, so tritt bei 40° im Wasserbad alsbald eine Coagulation der Milch ein. Auch bei Wachsthum auf den verschiedensten Nährböden, so z. B. auf der Kartoffel, liess sich regelmässig die Bildung von Labferment nachweisen.

Die Gerinnung der Milch ging auch unabhängig von der vitalen Thätigkeit der Bakterien vor sich. Das einfachste Verfahren, um zu einer wirksamen und gleichzeitig bakterienfreien Fermentlösung zu gelangen, stellt die Filtration durch die Chamberlandkerze dar. Auch die vorausgehende Erhitzung führt zum Ziele, und zwar genügt schon ein 2 Minuten langes Erwärmen auf 60°, um die sichere Abtödtung des Bacillus proteus fluorescens herbeizuführen. Selbst wenn man eine fünftägige, bei 20° gehaltene Gelatinecultur zehn Minuten lang auf 100° erhitzte und ½ ccm dieser Cultur zu 2 ccm Milch zufügte, so erfolgte bei 40° nach Zusatz eines Tropfens einer 5procentigen Calciumchloridlösung nach 7 Minuten feste Gerinnung der Milch; innerhalb derselben Zeit bewirkte auch die nicht erhitzte Cultur unter sonst gleichen Bedingungen die Coagulation. Bei 15 bezw. 20 Minuten langer Erhitzung auf 100° gerann die Milch unter gleichen Verhältnissen nach 10, bei halbstündiger Erhitzung auf 100° nach 50 Minuten. Somit ist das Labferment des Bacillus proteus fluorescens vor allen bisher bekannten Bakterienfermenten durch seine

ausserordentliche Resistenz gegenüber der Einwirkung hoher Temperaturen ausgezeichnet. Selbst das Labferment des Bacillus prodigiosus wird durch halbstündige Erhitzung auf 100° zerstört, wie bereits Gorini (10) fand und wie auch wir auf Grund eigener Versuche bestätigen können. Uebrigens ging die Coagulation der Milch nach Hinzufügen der Fermentlösung auch ohne Kalkzusatz, wenn auch langsamer, vor sich. Bemerkenswerth erscheint noch die Thatsache, dass der Bacillus proteus fluorescens Labferment auch bei der Temperatur des schmelzenden Eises bildet. Ein mit Proteus fluorescens geimpftes Gelatineröhrchen stand drei Wochen lang bei 0°. Darnach wurde die theilweise verflüssigte, alkalisch reagirende Gelatine entnommen und nach vorausgegangener zwei Minuten langer Erhitzung auf 60° in einem Verhältniss von 0·5 ccm zu 2 ccm Milch gebracht: nach Zusatz eines Tropfens einer 5procentigen Calciumchloridlösung war die Milch nach 10 Minuten fest geronnen. Wir möchten noch darauf hinweisen, dass zahlreiche, von uns untersuchte Stämme von Bacillus proteus vulgaris verschiedener Provenienz stets Labferment in ihren Culturen gebildet hatten. Roger (11) hat zuerst auf diese milchcoagulirende Eigenschaft des Bacillus proteus vulgaris die Aufmerksamkeit gelenkt.

Schliesslich wurde noch eine nähere Bestimmung der färbenden Substanz des Bacillus proteus fluorescens versucht. Der verflüssigte Theil von fünftägigen Gelatineculturen, 500 ccm, wurde im Vacuum bei 35° auf 5 ccm eingedampft. Der Vacuumrückstand zeigte einen intensiv gelblichgrünen, fluorescirenden Farbenton. Der fluorescirende Farbstoff war in Wasser und 60procentigem Alkohol gut löslich, unlöslich dagegen in Chloroform, Aether, Schwefelkohlenstoff, Benzol und Amylalkohol. Durch Chlorwasser wurde er innerhalb weniger Sekunden entfärbt. Diese kurzen Angaben dürften bereits genügen, um die völlige Uebereinstimmung der Farbstoffeigenschaften des Bacillus proteus fluorescens mit dem von Thumm (12) näher studirten Farbstoff des Bacillus fluorescens liquefaciens darzuthun. Es mag noch erwähnt werden, dass in mehrere Wochen alten Bouillon- und Gelatineculturen des Bacillus proteus fluorescens sich ein braunrother Farbenton in das lebhafte Gelbgrün einmischte. Vielleicht beruht diese theilweise Umwandlung des Farbstoffes ebenso auf Oxydationsvorgängen, wie die Braunfärbung von vorher gelblichgrünen Culturen des Bacillus pyocyaneus. Gegenüber den von Ruzicka (13) vertretenen Anschauungen muss hervorgehoben werden, dass wir niemals aus unseren Culturen einen dem Pyocyanin identischen, chloroform-löslichen, blauen Farbstoff erhielten.

Wir gehen nunmehr auf die Ergebnisse der Pathogenitätsprüfung des von uns isolirten Bacillus ein. Die bei den verschiedensten Temperaturen von 0° bis zu 40° hinauf vorgenommene Züchtung liess keinen merklichen Unterschied in der Virulenz der Culturen erkennen. Dagegen

machte sich schon nach kurzer Zeit eine Abnahme der Virulenz trotz fortgesetzter Umzüchtung geltend. Durch ununterbrochene Thierpassagen vermochten wir jedoch die Bacillen auf ihrer ursprünglichen Virulenzhöhe zu erhalten. Zunächst wurde die Pathogenität des aus den Fäces des Patienten gezüchteten Proteusbacillus ermittelt. Von einer 24stündigen, bei 37° gezüchteten Bouilloncultur reichte zwar $^1/_2$ ccm aus, um eine Maus von 20 grm bei subcutaner Injection binnen 24 Stunden zu tödten, hingegen blieb ein Meerschweinchen von 450 grm trotz intraperitonealer Injection von 1 ccm derselben Cultur am Leben. Eingehendere Berücksichtigung fanden die Virulenzverhältnisse des aus dem Urin gezüchteten Bacillus proteus fluorescens. Die folgenden Versuche wurden mit 20stündigen, bei 37° gezüchteten Bouillonculturen vorgenommen. Während 0·5 ccm dieser Cultur bereits genügten, um eine Maus von 20 grm bei subcutaner Injection zu tödten — übrigens derselbe Virulenzgrad wie bei der Fäcesbakterie —, erlag ein Kaninchen von 1720 grm erst der intravenösen Einspritzung von 5 ccm nach 18 Stunden. Ein Meerschweinchen von 420 grm ging bei intraperitonealer Injection von 4 ccm nach 20 Stunden zu Grunde, zur selben Zeit, wie eine junge Ratte von 125 grm, der 3 ccm in die Bauchhöhle eingespritzt wurden. Ungleich wirksamer als die Culturen erwiesen sich die aus der Bauchhöhle der inficirten Versuchsthiere herstammenden bacillenreichen Exsudate. (Die grösste Menge Exsudat, bis zu 20 bis 30 ccm, lieferten Meerschweinchen und Ratten.) So genügten schon 0·15 ccm Rattenexsudat, um bei intraperitonealer Impfung eine Maus von 15 grm innerhalb zwei Stunden zu tödten, und selbst die intraperitoneale Einspritzung von 0·01 ccm Rattenexsudat bewirkte den Tod einer Maus von 20 grm binnen 12 Stunden. Ein Meerschweinchen von 550 grm erlag der intraperitonealen Injection von 1 ccm Meerschweinchenexsudat nach 18 Stunden, ein Kaninchen der intravenösen Einspritzung von 1·5 ccm Kaninchenexsudat innerhalb 20 Stunden. Bei intraperitonealer Einverleibung von 2·5 ccm Rattenexsudat starb eine Ratte von 384 grm schon nach 3 Stunden. Endlich verendeten Hühner bei subcutaner Injection von 2 ccm Hühnerexsudat innerhalb 13 bis 15 Stunden, Tauben bei gleicher Menge und intramusculärer Einspritzung bereits nach 10 Stunden. Hunde hingegen erwiesen sich selbst grossen Mengen von Culturen oder Meerschweinchenexsudat gegenüber bei subcutaner, intramusculärer, intraperitonealer und intravenöser Injection völlig resistent. Sie zeigten keinerlei Krankheitserscheinungen, insbesondere war weder Fieber noch icterische Verfärbung der Schleimhäute zu constatiren. Abgesehen von den üblichen Infectionsversuchen haben wir auch die Möglichkeit, vom Darme aus eine Allgemeininfection hervorzurufen, einer experimentellen Prüfung unterzogen. Es ist uns in der That gelungen, bei mehreren Kaninchen durch Injection von



2 bis 3 ccm einer 24stündigen Bouilloncultur von Bacillus proteus fluorescens in das Duodenum oder eine obere Dünndarmschlinge eine tödtliche Allgemeininfection herbeizuführen. Um den unmittelbaren Durchtritt der Bakterien an der Injectionsstelle zu verhüten, wurde bei diesen Versuchen das von Buchbinder (14) im hiesigen Institut für Hygiene ausgearbeitete, sehr zweckmässige Verfahren angewandt. Die vom Darme aus inficirten Kaninchen gingen nach 1 bis 2 Tagen ein und in ihren Organen, besonders reichlich in Leber, Niere und Milz, wurden zahlreiche Bacillen nachgewiesen. Es liegt auf der Hand, dass diese experimentellen Ergebnisse wohl geeignet sein dürften, die weitere Forschung nach der Pathogenese der Weil'schen Krankheit in bestimmte Bahnen zu lenken. Es mag noch erwähnt werden, dass die Verfütterungsversuche, die an Hunden. Katzen und Kaninchen theils direct, theils mit der Schlundsonde vorgenommen wurden, zu keiner Infection geführt haben. In den Fäces der Versuchsthiere waren auffälliger Weise keine Proteus fluorescens-Bacillen mit Hülfe der üblichen Methoden nachweisbar. Dieses Resultat dürfte mit den von Schütz (15) neuerdings bei Verfütterung von Vibrio Metschnikoff gewonnenen Ergebnissen in gewisse Parallele zu stellen sein. Nicht erfolgreicher erwiesen sich auch die folgenden Versuche, die nur um ihrer Methodik willen hier angeführt werden. Einem Hunde wurde unter aseptischen Cautelen die Leber in toto herausgenommen und in eine sterile Doppelschale verbracht. Hierauf wurden mit einer sterilen Pravaz'schen Spritze grosse Mengen von 24stündiger Bouilloncultur des Bacillus proteus fluorescens unter peinlichster Asepsis mitten in das Lebergewebe injicirt. Sodann kam die Doppelschale in den Brütschrank bei 37°. Obschon in allen Fällen eine überaus reichliche Entwickelung von Proteus fluorescens-Bacillen erfolgte, und obschon die Mikroben unter Bedingungen gediehen, welche der natürlichen Infection sehr nahe kommen, so zog die Verfütterung von Hundelebern nach 3-, bezw. 5-, bezw. 8tägiger Brütschrankinfection für Hunde keine nachtheiligen Folgen nach sich. Jedoch ist auf die Möglichkeit hinzuweisen, dass die Giftproduction der Bacillen durch das autolytische Ferment der Leber in bestimmter Richtung beeinflusst werden könnte. In jedem Einzelfalle käme es deshalb darauf an, den Zeitpunkt herauszufinden, bis zu welchem einerseits die Giftbildung Seitens der Bacillen ihren Höhepunkt erreicht, andererseits eine etwaige Entgiftung durch die Leberzellen noch aussteht. Obschon die mitgetheilten Versuche zu keinem Ergebniss geführt haben, so hegen wir doch die Ueberzeugung, dass die hier beschriebene Methode zur Ermittelung der von den Mikroben im Organismus gebildeten toxischen Producte beitragen kann. Uebrigens wird die Annahme einer Toxinbildung Seitens des Bacillus proteus fluorescens durch unsere Versuche zum mindesten nicht bewiesen.



So haben wir uns vergebens bemüht, aus den Organen der inficirten Versuchsthiere giftige Bakterienproducte zu gewinnen. Vier Meerschweinchen wurden gleichzeitig mit unserem Bacillus geimpft, die Organe der Versuchsthiere sofort nach Eintritt des Todes mit Quarzsand zerrieben. Wir fügten 50 ccm Toluolwasser hinzu und brachten dann die zerriebenen Organe in ein Gefäss, in welchem sich neben Quarzsand Porzellankugeln verschiedener Grösse befanden. Das Gefäss ward dann für 24 Stunden in eine Schüttelmaschine eingestellt, darnach die resultirende Flüssigkeit im Vacuum zur Entfernung des Toluols eingeengt, der Vacuumrückstand durch eine Chamberlandkerze filtrirt. Von diesem Filtrat wurde Mäusen 0·5 bis 1·0 ccm ohne jede Schädigung injicirt.

Die mittels der **Buchner**'schen Presse aus den Organen von vier anderen, inficirten Meerschweinchen erhaltenen Presssäfte, die zur Sterilisation noch durch die Chamberlandkerze filtrirt werden mussten, zogen, in gleicher Menge Mäusen injicirt, keine nachtheiligen Folgen für diese nach sich. Auch als wir versuchten, aus den Bauchhöhleexsudaten der inficirten Versuchsthiere, sowie aus den Culturflüssigkeiten durch Abtödtung der Bacillen mittels Toluol oder Chloroform, sowie durch 2 Minuten langes Erhitzen bei 60° zu giftigen Substanzen zu gelangen, erhielten wir keine eindeutigen Resultate. Als zweckmässig bewährte sich uns hierbei folgendes Verfahren. In die Cultur- bezw. Exsudatflüssigkeit (10 bis 20 ccm) giebt man 2 bis 3 ccm Chloroform, darnach 2 bis 3 ccm Toluol hinein und schüttelt gut durch. Dann wird die betreffende Flüssigkeit von einer unteren Chloroformschicht und einer oberen Toluolschicht eingeschlossen. Da das Toluol aber die Tendenz hat, sich in Chloroform zu lösen und umgekehrt, so werden beide Antiseptica so lange durch die Zwischenschicht diffundiren, bis diese an Chloroform-Toluol gesättigt ist. Trotz aller Bemühungen waren wir jedoch nicht in der Lage, mit Hülfe der verfügbaren Methoden eine Giftbildung Seitens des Bacillus proteus fluorescens zu constatiren. Wir wissen kein Mittel, um zu einer näheren Kenntniss der Pathogenese des vorgenannten Bacillus zu gelangen.

Es erübrigt noch, die anatomischen Organveränderungen von den der Infection erlegenen Versuchsthieren anzuführen. Da bei sämmtlichen untersuchten Thierarten der pathologisch-anatomische Befund in den wesentlichen Zügen sich wiederholte, so greifen wir ein Sectionsprotocoll eines beliebigen Meerschweinchens heraus: Kein Icterus. In der Bauchhöhle reichliches, trübes Exsudat mit spärlichen Fibrinflocken. Einige circumscripte Auflagerungen von Fibrin auf der Leberoberfläche und dem Peritoneum. Die Dünndärme, besonders stark injicirt, weisen an mehreren Stellen oberflächliche Erosionen der Schleimhaut auf. Milz vergrössert. Nieren sehr gross und blutreich. Die Rindensubstanz insbesondere er-



scheint stark injicirt, die acinöse Zeichnung verschwommen. Mikroskopisch findet sich trübe Schwellung, Nekrose der Nierenepithelien, sowie kleinzellige Infiltration. Leber weich, schlaff und blass, mikroskopisch albuminöse Trübung und geringe fettige Degeneration. Die übrigen Organe ohne Besonderheiten.

Was die Vertheilung der Bacillen auf die einzelnen Organe betrifft, so stellten wir durch Plattenverfahren, Ausstrichpräparate, sowie Gewebsschnitte folgendes fest. Am reichlichsten fanden sich die Mikroben in den Exsudaten der Bauchhöhle, sowie im Darminhalt. Dann folgten in absteigender Reihenfolge Nieren, darauf Leber, Milz und Urin. Im Herzblut und in den Lungen waren Bakterien nur spärlich anzutreffen.

In den Hauptzügen zeigt demnach der von uns erhobene pathologisch-anatomische Befund eine weitgehende Uebereinstimmung mit den Jäger'schen Beobachtungen. Da indessen für die Weil'sche Krankheit nur wenige Sectionsprotokolle vorliegen, so ist es nicht angängig, bereits zu der Frage Stellung zu nehmen, ob die bei der Weil'schen Krankheit auftretenden Organläsionen sich mit denen der experimentellen Infection mit Bacillus proteus fluorescens decken. So viel dürfte aber feststehen, dass die in unserem Falle beobachteten Krankheitserscheinungen auf die vorausgegangene Infection mit Bacillus proteus fluorescens zu beziehen sind. Erst die weitere Forschung wird allerdings klarstellen müssen, ob dieser Bakterienart nur bei der Weil'schen Krankheit — und hier in jedem einzelnen Falle — eine ursächliche Bedeutung zukommt. Dann erst wird man darüber schlüssig werden, ob die Weil'sche Krankheit durch einen specifischen Infectionsträger ausgelöst wird und somit auch eine ätiologische Einheit darstellt.

Litteratur-Verzeichniss.

1. A. Weil, *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* 1886. Bd. XXXIX.
2. H. Jäger, *Diese Zeitschrift.* 1892. Bd. XII. S. 525.
3. Banti, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. S. 493. u. 735.
4. Jäger, *Ebenda.* 1895. S. 667 u. 848.
5. M. Pfaundler, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Bd. XXIII. S. 9.
6. W. Kuntze, *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXIV. S. 169.
7. A. Macfadyen, *Journal of Anat. and Phys.*. April 1892.
8. A. Pfuhl, *Diese Zeitschrift.* 1901. Bd. XXXV. S. 285.
9. Ernst, *Ebenda.* 1887. Bd. II. S. 377.
10. K. Gorini, *Hygienische Rundschau.* 1893. Bd. III. S. 381.
11. Roger, *Revue de médecine.* 1893. p. 865.
12. K. Thumm, *Arbeiten a. d. bakter. Institut zu Karlsruhe.* 1897. Bd. I. S. 292.
13. St. Ruzicka, *Archiv für Hygiene.* 1898. Bd. XXXIV. S. 149.
14. Buchbinder, *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie.* 1900. Bd. LV. S. 458.
15. R. Schütz, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1900. S. 553.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]

Ueber die desinficirenden Eigenschaften der Peroxole.

Von

Prof. Dr. **Max Beck.**

Die Chirurgie hat heutzutage mit ihren idealen und vollendeten aseptischen Methoden wohl den Culminationspunkt der Vollkommenheit erreicht, trotzdem kann sie aber doch die antiseptische Wundbehandlung daneben nicht vollständig entbehren. Von der grossen Menge der Antiseptica, welche noch vor Jahrzehnten im Beginn der Lister'schen Aera den Arzneischatz zierten, sind bis jetzt nur noch wenige übrig geblieben, zu welchen bei einer Operation gegriffen wird. Vor Allem ist es das Sublimat und die verschiedenen Cresolpräparate, welche als Antiseptica heutzutage noch in Betracht gezogen werden, die jedoch wegen ihrer giftigen Eigenschaften im Allgemeinen nur in schwacher Concentration angewendet werden. Andere Präparate dagegen, wie die essigsaure Thonerde, Borsäure, Salicylsäure u. s. w., welche diese giftigen Eigenschaften nicht besitzen, wirken im Allgemeinen nicht so intensiv, um in den gebräuchlichen Verdünnungen die inficirenden Bakterien in Wirklichkeit abzutödten.

Der Gedanke liegt daher nahe, durch Combination einer grösseren oder geringen Anzahl von mehr oder weniger concentrirten antiseptischen Mitteln verschiedenster Art eine Mischung herzustellen, deren einzelne Bestandtheile in so geringer Menge in derselben enthalten sind, dass sie keine giftigen Eigenschaften erzeugt, im Ganzen zusammen aber doch antiseptisch wirkt. Von diesem Grundsatz ausgehend empfahl Rotter eine Lösung der gebräuchlichsten Antiseptica: Sublimat, Carbolsäure, Zinc. chlor., Zinc. sulfocarb., Acid. bor., Acid. salicyl., Thymol und Acid. citric.

Der Grundgedanke dabei war, eine antiseptische Wirkung durch die Vereinigung einer ganzen Anzahl von antiseptischen Mitteln in einer



Lösung auszuüben, deren jedes einzelne in nur so geringer Quantität vorhanden sein darf, dass es nicht im Stande ist, eine specifisch toxische Wirkung dem Körper gegenüber auszuüben, während andererseits die Summe der Mittel doch die locale, volle antiseptische Wirkung zu entfalten mag.

Uebrigens hatte schon früher Lépine auf diesen Umstand aufmerksam gemacht und eine Mischung verschiedener Antiseptica: Salicylsäure, Sublimat, Carbolsäure, Brom u. s. w. angewandt. Auch die von Löffler[1] gegen Diphtherie aus Alkohol, Toluol, Liq. ferri sesquichlor. und Menthol hergestellte Lösung mag in gewissem Sinne hierher gerechnet werden.

Als ein starkes, dabei gleichzeitig doch unschädliches und ungiftiges Antisepticum hat immer das Wasserstoffsuperoxyd (H_2O_2) gegolten. Bei dem Zusammenbringen von stärkeren Lösungen mit Blut oder Eiter findet eine Zersetzung des H_2O_2 in Wasser und Sauerstoff statt. Diese katalytische Wirkung zeigt sich deutlich, indem bei der Abspaltung des Sauerstoffes im Blute und im Eiter eine starke Schaumbildung entsteht. In gleicher Weise sehen wir aber auch dieselbe katalytische Wirkung, wenn wir das H_2O_2 mit Bakterien oder Bakteriengemischen in Berührung bringen. Es bilden sich gleich bei dem Eingiessen des H_2O_2 feine Bläschen, die in wenigen Minuten anwachsen und eine reichliche Schaumbildung bewirken. Sehr schön sieht man diesen Vorgang in einer 48stündigen Bouilloncultur von Diphtheriebacillen, wo sich sofort nach Eingiessen einiger Tropfen von einer verdünnten H_2O_2-Lösung eine so heftige Schaumbildung entwickelt, dass der Schaum in kürzester Zeit über den oberen Rand des Reagensgläschens überläuft und den verschliessenden Wattepfropfen über den Rand hinausdrängt.

Man nimmt allgemein an, dass die baktericide Wirkung des H_2O_2 in der Bildung von nascirendem O bestehe. Nach unseren Erfahrungen nimmt aber die desinficirende Kraft des H_2O_2 mit der Zunahme der katalytischen Kraft in dem betreffenden Medium, sei es Eiter oder Blut, ab, wie dies auch Al. Schmidt und Honsell[2] gefunden haben. Letzterer kommt nach Vergleich der Einwirkung von H_2O_2 auf Staphylokokken in Hydrocelenflüssigkeit, in serofibrinösem Exsudat und in Eiter zu dem Schlusse, dass „ganz parallel mit der Zunahme der katalytischen Kraft des Mediums eine Abnahme des baktericiden Vermögens des Wasserstoffsuperoxyds einhergeht“.

Wir sehen aber gleichzeitig bei dieser Einwirkung des H_2O_2 auf die Gewebsflüssigkeiten, wie z. B. in Geschwüren unter Schaumbildung der Eiter und die Blutcoagula aufgezehrt und schliesslich entfernt werden.

[1] *Hygienische Rundschau.* 1896. Bd. VI.

[2] *Beiträge zur klin. Chirurgie.* Bd. XXVII.



Es lag daher der Gedanke nahe, das Wasserstoffsuperoxyd mit sauren antiseptischen Lösungen, durch die das H_2O_2 selbst nicht zersetzt wird, zu verbinden und auf diese Weise durch Combination mit Salicylsäure, Carbolsäure u. s. w. ein Desinficiens zu schaffen, das nicht bloss oberflächlich zu wirken im Stande ist, sondern auch in die Tiefe und in die Ecken und Kanten der Wundflächen seine desinficirende Eigenschaft zu entfalten vermag.

Ausserdem sahen wir aber andere Mittel aus der aromatischen Reihe in Verbindung mit H_2O_2 entschieden stärker desinficirend wirken als allein, vor Allem β-Naphtol und Thymol, und ebenso Campher, Menthol, ferner auch schwefelsaures Chinin und Chlorzink.

Diese Präparate, welche unter dem Namen Peroxole von der chemischen Fabrik C. Raspe in Weissensee bei Berlin hergestellt werden, stellen wasserklare Flüssigkeiten dar, die sich beliebig mit Wasser verdünnen lassen. Je nach ihrer Verbindung mit Campher, β-Naphthol, Menthol oder Thymol werden dieselben als Campheroxol, Naphthoxol, Menthoxol oder Thymoxol bezeichnet. Der wesentliche Bestandtheil derselben ist H_2O_2 in 3procentiger Lösung (Gewichtsprocent) und zwar so, dass den alkoholischen Lösungen von Campher u. s. w. eine stärker concentrirte Lösung von H_2O_2 zugefügt wird, bis letztere 3 Procent entspricht. Das Wasserstoffsuperoxyd ist frei von Salzsäure und enthält wesentlich nur zur Conservirung geringe Spuren von Phosphorsäure.

Die anderen Bestandtheile sind in 1procentiger Lösung dem Präparate zugefügt, so Thymol, Campher, Menthol und Salicylsäure, β-Naphthol dagegen in 2procentiger Lösung. Durch Zusatz von 33 bis 38 Procent Alkohol werden diese Mittel in Lösung erhalten.

Wenn wir diese Präparate, also z. B. Menthoxol, bestehend aus 1 Procent Menthol, 33 Procent Alkohol, in 100 ccm 3procentigem Wasserstoffsuperoxyd als Original- oder concentrirte Lösung bezeichnen, so kommen, um dies hier gleich zu bemerken, für die Praxis hauptsächlich 5- bezw. 10procentige Verdünnungen in Betracht.

Trotzdem das Wasserstoffsuperoxyd als solches schon seit langer Zeit mit Recht in der Chirurgie zur Desinfection von Wunden und besonders zum Reinigen von Geschwüren angewandt worden ist, hat es doch im Allgemeinen wenig Eingang gefunden, besonders auch deshalb, weil bis jetzt wenig haltbare Präparate in den Handel gebracht worden sind. Denn die concentrirten Lösungen zersetzen sich leicht in Licht und Wärme und geben in Bälde ihren Sauerstoff ab, so dass sie in kurzer Zeit unwirksam werden. Zur Desinfection von Wänden und von Effecten muss von dem Wasserstoffsuperoxyd wegen seiner bleichenden Wirkung selbstverständlich Abstand genommen werden.



Schon im Jahre 1868 hat Stöhr[1] auf die günstige Einwirkung des H_2O_2 bei eitrigen Geschwüren, besonders bei Schankergeschwüren, hingewiesen. Stöhr stellte sich die Einwirkung des H_2O_2 so vor, dass es nicht als Aetzmittel wirkt, sondern nur die Parenchymflüssigkeit (den Eiter und das Blutserum) beeinflusst, während es die diphtheritischen bezw. croupösen Exsudate in ihrer morphologischen und chemischen Beschaffenheit verändert. In eingehender Weise hat Honsell[2] die Litteratur und die Wirkung des H_2O_2 in der chirurgischen Praxis zusammengestellt, und man sieht daraus, in wie mannigfacher Weise das H_2O_2 versucht worden ist, ohne jedoch festen Fuss fassen zu können.

Das Präparat von H_2O_2, welches auf der chirurgischen Klinik in Tübingen angewendet wird, ist in der chemischen Fabrik von Merck in Darmstadt hergestellt, es ist frei von Säure und wird in 30procentiger Lösung in den Handel gebracht. Bezüglich der desinficirenden Kraft dieses Mittels kommt Honsell zu dem Schluss, „das Gesammtresultat der bakteriologischen Untersuchungen möge zum Schluss noch in folgende Sätze zusammengefasst werden:

1. 3procentiges WSO ist dem 1promilligen Sublimat in wässerigen Lösungen gleich zu stellen, in eiweissreichen und zellarmen Medien überlegen; in zahlreichen Flüssigkeiten wirken beide gleich schlecht.

2. Die baktericide Kraft des 1·5procentigen WSO steht unter der des Sublimats in wässerigen, über denselben in eiweisshaltigen, zellarmen Medien.

3. Essigsaure Thonerde kann in 2procentiger Lösung mit WSO in keiner Weise concurriren.

4. Finden sich die Bakterien in organischen Flüssigkeiten, so nimmt die antiseptische Kraft des WSO ab, und zwar desto mehr, je energischer die betreffende Flüssigkeit des WSO katalysirt.

5. Soweit aus den Reagensglasversuchen auf die Praxis geschlossen werden darf, können wir nach den geschilderten Untersuchungen annehmen, dass zwar WSO überall da kräftige antiseptische Wirkungen entfalten wird, wo es, wie z. B. bei der Desinfection von Urin, Trinkwasser u. s. w., ausser Berührung mit erheblicheren Quantitäten organisirten Materiales steht; dass es dagegen in der Wundbehandlung, wo die Mikroben sich inmitten von Eiter, Blut und sonstigen stark katalysirenden Elementen befinden, kaum baktericid wirken wird, was auch für die beiden verglichenen Mittel, das Sublimat und die essigsaure Thonerde, gilt."

[1] *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* 1868. Bd. III.

[2] A. a. O.



Wenn wir eine Wunde, besonders eine geschwürige Fläche, mit Wasserstoffsuperoxyd behandeln, so fällt, wie wir schon früher bemerkten, sofort die starke Schaumbildung auf, die auf einer katalytischen Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds beruht. Mit der Schaumbildung geht eine Zerstörung der organischen Substanzen der Wundoberfläche einher, es zersetzt sich zunächst das derselben anhaftende Blut und der Eiter, und damit tritt zunächst eine Reinigung des Geschwüres ein, also eine ideale Oberflächendesinfection, da auch die dem Eiter und Blut anhaftenden Bakterien bei diesem Vorgange mit zerstört werden. Bei näherer Betrachtung bemerken wir aber auch, dass diese katalytische Wirkung nicht vorübergehender Natur ist, sondern mehrere Stunden anhält, was die lange dauernde Schaumbildung auf dem Geschwüre beweist. Die katalysirende Wirkung des H_2O_2 beruht aber nicht bloss auf dieser oberflächlichen Reinigung, sondern sie dringt auch noch tiefer in das umgebende Gewebe ein. Besonders werden auf diese Weise auch die Ecken und Buchten, in die die anderen Mittel nicht eindringen können, aufgeschlossen. Ausserdem aber wird auch der Boden des Geschwüres gereinigt und dem H_2O_2 Gelegenheit geboten, vermöge der katalytischen Wirkung sämmtliche neu sich bildenden Eiterzellen zu zerstören. Ist diese Vernichtung der das Geschwür bedeckenden Eiterzellen vollendet, so tritt als weiterer Factor das dem H_2O_2 beigegebene Desinficiens, wie Salicylsäure, Menthol, Naphtol, Carbolsäure u. s. w., in Kraft, indem es nun ungeschwächt seine desinficirende Wirkung auf die Geschwürsoberfläche sowohl als auch in die tieferen Schichten der gereinigten Gewebe entfalten kann.

Ein einfaches Beispiel diene als Beweis, das tuberculöse Impfgeschwür beim Meerschweinchen. Wird einem Meerschweinchen eine Platinöse voll einer Reincultur von Tuberkelbacillen in eine kleine künstliche Hauttasche der vorher abrasirten Bauchhaut gebracht, so heilt die Wunde, wie R. Koch zeigte, zunächst vollständig zu. Nach ca. 8 Tagen bildet sich an der Impfstelle ein eitriger Entzündungsherd, der nach weiteren 4 bis 6 Tagen aufbricht und zu einem eitrig secernirenden Geschwür sich umbildet. In diesem Geschwür findet man massenhaft Tuberkelbacillen, besonders am Rande desselben, daneben fehlen aber auch nie Staphylokokken und andere eitererregende Bakterien. Wird nun ein solches Geschwür nur mit H_2O_2 behandelt, sei es in Umschlägen oder in öfterem Abwaschen mit concentrirten Lösungen, so wuchern, wie Impfungen auf frische Thiere zeigen, die Staphylokokken ebenso wie die Tuberkelbacillen im Grunde des Geschwüres sowie am Rande desselben weiter, während die auf gleiche Weise mit Campheroxol, Naphthoxol oder Menthoxol behandelten Geschwüre vollständig steril bleiben und bei von Neuem damit geimpften Thieren vollständig resorbirt werden, ohne ein frisches Geschwür

und allgemeine Tuberculose zu erzeugen. Die Tuberkelbacillen waren also in diesem Falle ebenso wie die secundär eingedrungenen Staphylokokken u. s. w. durch die Peroxole vollständig vernichtet worden. Es ist also damit deutlich nicht sowohl die intensivere Wirkung derselben gegenüber dem H_2O_2 allein, als auch deren specifische Eigenschaft, in die Tiefe zu wirken, dargethan, und wir dürfen die letztere wohl dahin deuten, dass durch die katalytische Wirkung des H_2O_2 der Boden für die anderen desinficirenden Mittel erst vorbereitet wird. Die Salicylsäure, das Naphthol, das Menthol und dergl. kann nun ungehindert seine desinficirende Kraft auf die frische Geschwürsfläche entfalten und zu gleicher Zeit auch mehr oder weniger nach Zerstörung der Eiterzellen in die Tiefe wirken. Und ich halte speciell diese Eigenschaft für einen grossen Vorzug gegenüber den bisherigen Antiseptica.

In der chirurgischen Praxis fanden die Peroxole Anwendung auf der Klinik von A. Köhler[1] besonders bei Phlegmonen und Abscessen. Es wurden über 200 Fälle längere Zeit mit Menthoxol, Campheroxol oder Naphthoxol behandelt, stets in 10 procentiger Lösung. Die Eitersecretion wurde geringer, es kam niemals zu Verhaltungen und es fand niemals eine Zersetzung des Secretes statt. Ebenso zeigten die Peroxole einen entschiedenen Einfluss auf die Granulationsbildung, besonders die schlaffen und grauweissen Granulationen boten nach einigen Tagen ein schönes rothes und pralles Aussehen dar. Auch Fussgeschwüre überhäuteten sich rasch. Zugleich wird von Köhler auf die desodorisirende Eigenschaft der Peroxole hauptsächlich bei übelriechenden Eiterungen aufmerksam gemacht.

Auch Werner[2] berichtet über sehr günstige Resultate bei Lymphadinitis, Phlegmonen, Abscessen und über eine rasche und lebensfrische Granulationsbildung bei Geschwüren besonders bei Ulcus cruris. Ferner weist Werner noch auf die günstigen Resultate bei Rachenerkrankungen hin, er verwendet 5 bis 10 procentiges Menthoxol zum Gurgeln bezw. zur Betupfung der erkrankten Schleimhaut, er empfiehlt das Menthoxol daher als Ersatz für Kali chloricum. Ausserdem rühmt er aber auch das Mittel als Desodorans bei Ohreiterungen. Unangenehme Nebenwirkung sind ihm niemals begegnet, namentlich keine Reizerscheinungen und keine Ekzeme. Die Instrumente werden nicht angegriffen und nicht schlüpfrig wie z. B. bei Lysol.

Um den baktericiden Einfluss der Peroxole auf verschiedene Bakterien zu studiren, wurden von mir Milzbrandsporen, nach dem Koch'schen Verfahren an Seidenfäden angetrocknet, ferner Reinculturen von Bac. pyocyaneus.

---

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 45.

[2] *Deutsche med. Presse.* 1899. Nr. 22.



Bacillus diphtheriae, Staphylococcus aureus, sowie mit Eiter imprägnirte und getrocknete Seidenfäden mit verschieden concentrirten Lösungen der Peroxole verschieden lange Zeit zusammengebracht und dann mit Bouillon bei 37° 24 Stunden lang in den Brütschrank gestellt. Bemerken möchte ich, dass die Milzbrandseidenfäden in einer Länge von 3 bis 4 mm einer Maus unter die Haut der Schwanzwurzel gebracht, diese in 24 Stunden tödteten. Die Milzbrand- und die Eiterfäden wurden, nachdem sie mit dem zu prüfenden Desinficiens auf bestimmte Zeit in Berührung waren, in sterilisirtem Wasser gut abgewaschen und dann in gewöhnliche Bouillon gebracht. Die übrigen Bakterien wurden in der Weise geprüft, dass die zu untersuchende Flüssigkeit zu einer 24 Stunden alten, auf schräg erstarrtem Agar gut gewachsenen Cultur, nachdem das Condenswasser abgegossen und mit sterilem Fliesspapier vollständig entfernt war, gebracht und nach bestimmter Zeit vorsichtig wieder abgegossen wurde. Dann wurde die Cultur noch einmal mit sterilem Wasser gut durchgewaschen und der Rest auf ein frisches Agarröhrchen auf Bouillon übergeimpft oder in Agarplatten ausgegossen.

In der folgenden Tabelle sehen wir den desinficirenden Einfluss der Peroxole auf die obengenannten Testobjecte einerseits verglichen zu einander, andererseits im Vergleich zu H_2O_2 allein bezw. einem Gemisch von H_2O_2 mit Alkohol. Bemerken möchte ich dazu, dass + Wachsthum, — Abtödtung, ± Entwickelungshemmung der betreffenden Bakterien bedeutet.

Wir ersehen aus dieser Tabelle, dass Milzbrandsporen durch H_2O_2 allein in 2 bis 3 Stunden, durch Camphoroxol in $^1/_2$ bis 1 Stunde, durch Menthoxol schon in 10 bis 30 Minuten und durch Naphthoxol gleichfalls in 10 bis 30 Minuten abgetödtet werden. 10 procentige Lösungen von H_2O_2 allein wirken in 12 Stunden, von Champhoroxol u. Menthoxolin in 3 Stunden und von Naphthoxol gleichfalls in 3 Stunden sicher abtödtend und in gleicher Concentration das Menthoxol und das Naphthoxol in 2 Stunden entwicklungshemmend. Das Thymoxol tödtet in 10 procentiger Lösung Milzbrandsporen schon in 2 Stunden ab.

Vergleichen wir damit die Wirkung von Menthol, Campher oder β-Naphtol in 1 procentigen Lösungen allein, ohne Zusatz von H_2O_2, so finden wir einen ganz erheblichen Unterschied, da diese allein erst in höchstens 48 Stunden Milzbrandsporen abtödten, aber auch H_2O_2 allein wirkt entschieden weniger kräftig als die Combination mit diesen Mitteln, da eine concentrirte Lösung die Milzbrandsporen erst in 2 bis 3, eine 10 procentige Lösung erst in 12 Stunden abtödtet.

In gleicher Weise aber sehen wir auch einen ganz erheblichen Unterschied bei der Einwirkung auf Diphtheriebacillen, Pyocyaneus und Staphylococcus aureus.



Tabelle.

I. Bac. pyocyaneus.

Präparat	Lösung	Nach							
		10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Carbolsäure (3 Proc.)	conc.	+	—	—	—				
	5 Proc.						+	—	—
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Campher . .	conc.	—	—	—	—		—		
	5 Proc.	+	+	+	+	+	—	—	—
	10 „	±	—	—					
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + β-Naphthol	conc.	—	—	—					
	10 Proc.	—	—	—					
	5 „				+		—	—	—
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Thymol (1 Proc.)	conc.	—	—	—	—				
	10 Proc.	—	—	—	—				
	5 „	+	+	+	+	—	—	—	—
H_2O_2 + Chlorzink	conc.			—	—	—	—	—	—
	5 Proc.						+	—	—
H_2O_2 + Carbolsäure	conc.	±	—	—	—	—			
	5 Proc.						+	—	—
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Salicylsäure	conc.	±	—	—	—				
	10 Proc.	+	—	—					
	5 „	+	+	+	+	+	—		
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Menthol . .	conc.	—	—	—					
	10 Proc.	±	—	—					
	5 „	+	+	+	+	+	—	—	—
H_2O_2	conc.	+	—	—					
	10 Proc.	+	+	—					
	5 „	+	+	+	+	+	—	—	
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.)	conc.		+	+	—	—			
	10 Proc.					+	±	—	—
	5 „							+	+
H_2O_2 + Glycerin (10 Proc.)	conc.			+	—	—			
	10 Proc.							+	—

II. Bac. diphtheriae.

Präparat	Lösung	10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
H_2O_2	conc.	+	—	—					
	10 Proc.	+	+	—	—	—	—		
	5 „	+	+	+	+	+	+	—	—
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.)	conc.	+	+	+	—	—			
	10 Proc.				+	±			
	5 „							+	—
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Carbolsäure	conc.	+	—	—	—				
	5 Proc.		+	+	+	+	—		
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Campher .	conc.	—	—						
	10 Proc.	±	—						
	5 „	+	+	+	±	—			
H_2O_2 + Glycerin (10 Proc.)	conc.	+	+	±					
	5 Proc.						+		



II. Bac. diphtheriae (Fortsetzung).

Präparat	Lösung	Nach							
		10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
H_2O_2 + Alkohol + β-Naphthol	conc.	—	—	—					
	10 Proc.	±	—	—	—	—	—	—	
	5 „	+	+	+	+	—	—	—	
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Thymol . .	conc.	—	—	—					
	10 Proc.	±	—	—					
	5 „	+	+	+	+	—	—	—	
H_2O_2 + Carbolsäure (ohne Alkohol) . . .	conc.	+	±	—	—				
	10 Proc.	+	+	+	±	—	—	—	—
	5 „							+	—
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Salicylsäure	conc.	±	—	—	—				
	10 Proc.	+	—	—					
	5 „	+	+	+	+	+	+	+	—
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Menthol (1 Proc.)	conc.	—	—	—	—				
	10 Proc.	±	—	—					
	5 „	+	+	+	+	+	+	—	—

III. Staphylococcus aureus.

Präparat	Lösung	10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
H_2O_2	conc.	+	+	±	—				
	10 Proc.	+	+	+	+	—	—		
	5 „							+	
	1 „								−
Alkohol	33 „	+							
H_2O_2 + Alkohol (33 Procent)	conc.	+	+	+	—				
	10 Proc.					+	+		
	5 „							+	—
H_2O_2 + Glycerin (10 Proc.)	conc.			+	—				
	10 Proc.			+	+	+	+	+	+
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Carbolsäure (5 Proc.)	conc.			+	—				
	5 Proc.								—
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Campher (1 Proc.)	conc.	±	—	—					
	10 Proc.	+	+	+	±				
	5 „							+	—
	1 „								+
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + β-Naphthol	conc.	±	—	—					
	10 Proc.	+	±	—	—				
	5 „					+	±	—	—
H_2O_2 + Alkohol + Thymol	conc.	±	—	—					
	10 Proc.	+	±	—	—				
	5 „						+	—	—
H_2O_2 + Carbolsäure ohne Alkohol . . .	conc.				+	—	—		
	5 Proc.							+	—
H_2O_2 + Alkohol (30 Proc.) + Salicylsäure	conc.	+	±	—	—				
	5 Proc.						+	—	
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Menthol . .	conc.	±	—						
	10 Proc.	±	+	—	—	—			
	5 „						+	—	—
H_2O_2 + Chlorzink	conc.			+	—				
	5 Proc.						+	—	

IV. Milzbrandfäden.

Präparat	Lösung	Nach 10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
H_2O_2	conc.	+	+	+	+	—			
	10 Proc.				+	+	—		
	5 „						+	+	—
	1 „							+	+
Alkohol (33 Proc.)								+	+
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.)	conc.				+	+	—		
	10 Proc.					+	+	±	
H_2O_2 + Glycerin (10 Proc.)	conc.					+	—		
	10 Proc.					+	±		
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Carbolsäure	conc.	+	+	±	—	—			
	10 Proc.					+	—		
	5 „					+	+	—	
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Campher (1 Proc.)	conc.	+	+	—	—	—			
	10 Proc.	+	+	+	+	—			
	5 „						+	—	
H_2O_2 + Alkohol (30 Proc.) + Menthol (1 Proc.)	conc.	+	±	—	—	—			
	10 Proc.	+	+	+	±	—			
	5 „					+	—	—	
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + β-Naphthol	conc.	+	±	—	—	—			
	10 Proc.	+	+	+	±	—			
	5 „						±	—	
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Thymol (1 Proc.)	conc.	+	±	—	—	—	—		
	10 Proc.	+	+	+	—	—			
	5 „				+	+	—		
H_2O_2 + Chlorzink	conc.			+	—				
	10 Proc.				±	—			
	5 „					+	±	—	
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Salicylsäure (1 Proc.)	conc.	+	±	—	—				
	10 Proc.	+	+	+	±	—	—		
	5 „	+	+	+	+	+	—	—	

V. Eiterfäden.

Präparat	Lösung	10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.
H_2O_2	conc.	+	+	±	—	—			
	50 Proc.	+	+	+	—				
	20 „	+	+	+	+	—	—	—	
	10 „	+	+	+	+	—	—	—	
	5 „	+	+	+	+	+	+	+	
	1 „							+	+
Alkohol	33 „	+	+	+	+	+	+	+	+
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Menthol (1 Proc.)	conc.	—	—	—					
	50 Proc.	—	—	—					
	20 „	—	—	—					
	10 „	±	—	—					
	5 „	+	+	+	—				
	1 „	+	+	+	+	+	+	—	
H_2O_2 + Alkohol (33 Proc.) + Campher (1 Proc.)	conc.	—							
	50 Proc.	—							
	20 „	—							
	10 „	±							
	5 „	+	+	+	—				
	1 „	+	+	+	+	+	+	—	

Eiterfäden werden durch concentrirte Lösungen von H_2O_2 in 60 Minuten, durch Camphoroxol in 10 Minuten, durch Menthoxol gleichfalls in 10 Minuten, durch Naphthoxol ebenfalls in 10 Minuten vollständig desinficirt, die Wirkung von Campher, Menthol, und β-Naphthol allein in entsprechender Lösung bleibt auch hier gegenüber der Combination mit H_2O_2 ganz erheblich zurück. Aber auch H_2O_2 allein wirkt, wie wir sehen, bei weitem nicht so stark, wie die Peroxole.

Vergleichen wir weiter damit die desinficirende Wirkung der Combinationsmittel: β-Naphthol, Thymol, Menthol und Campher in der in den Peroxolen enthaltenen Concentration zusammen mit 33 Procent Alkohol aber ohne H_2O_2, so finden wir einen ganz erheblichen Unterschied. Wir sehen Milzbrandsporen nach 6 Stunden noch lebensfähig, auf Pyocyaneus wirken sie in 2 Stunden nur entwicklungshemmend ein, und auch Staphylococcus aureus ist in 3 Stunden noch nicht abgetödtet.

Die von uns benutzten Milzbrandsporenfäden werden zum Vergleich mit 1 pro mille Sublimat, 2procentiger essigsaurer Thonerde und 5procentigem Carbolwasser zusammengebracht und nach bestimmter Zeit, nachdem sie in destillirtem Wasser gut abgewaschen worden waren, in Bouillon gebracht. Die Sporen wurden durch ein pro mille Sublimat nach 2 bis 3 Stunden, durch 2procentige essigsaure Thonerde und durch 5procentiges Carbolwasser erst nach 12 bezw. 20 Stunden abgetödtet. Die Peroxole in 10procentiger Lösung sind also ihrem Desinfectionswerth nach in gleiche Stufe zu stellen mit 1 pro mille Sublimat, und stehen höher als 5procentiges Carbol und 2procentige essigsaure Thonerde.

Um die Einwirkung und die desinficirende Kraft der Peroxole in serösen Flüssigkeiten zu untersuchen, wurden Camphoroxol und Menthoxol in bestimmten Mengen zu 10 ccm frischen Blutserums zugesetzt und diese Mischung mit Staphylokokken geeimpft. Zur Controlle fügte ich auch H_2O_2 zu der gleichen Menge Blutserum und impfte diese Mischung mit Staphylokokken.

1. 10 ccm Blutserum + 1 ccm 10procentiges Camphoroxol bleibt unverändert (Wachsthum der Staphylokokken +)
   10 „ + 2 ccm 10procentiges Camphoroxol ebenso (Wachsthum der Staphylokokken +)
   10 „ + 3 ccm 10proc. Camph. leichte Trüb. an der Berührungsfläche, löst sich beim Schütteln auf (Wachsthum der Staphylokokken +)
   10 „ + 4 ccm 10procentiges Camphoroxol ebenso (Wachsthum der Staphylokokken —)
   10 „ + 5 ccm 10proc. Camphoroxol etwas stärkere Trübung (Wachsthum der Staphylokokken —)

2. 10 ccm Blutserum + 1 ccm 10procentiges Menthoxol leichte Trübung, löst sich auf (Wachsth. der Staphylokokken +)
10 „ + 2 ccm 10procentiges Menthoxol ebenso (Wachsthum der Staphylokokken +)
10 „ + 3 ccm 10proc. Menthoxol ebenso, geringe Schaumbildung (Wachsthum der Staphylokokken +)
10 „ + 4 ccm 10proc. Menthoxol ebenso, geringe Schaumbildung (Wachsthum der Staphylokokken —)
10 „ + 5 ccm 10proc. Menthoxol ebenso, mässige Schaumbildung (Wachsthum der Staphylokokken —)

3. 10 ccm Blutserum + 1 ccm 10procentiges H_2O_2 leichte Trübung (Wachsthum der Staphylokokken +)
10 „ + 2 ccm 10procentiges H_2O_2 ebenso (Wachsthum der Staphylokokken +)
10 „ + 3 ccm 10proc. H_2O_2 geringe Trübung und Schaumbildung (Wachsthum der Staphylokokken +)
10 „ + 4 ccm 10procentiges H_2O_2 ebenso (Wachsthum der Staphylokokken +)
10 „ + 5 ccm 10procentiges H_2O_2 starke Schaumbildung (Wachsthum der Staphylokokken +).

Man sieht also, dass sich einerseits bei Camphoroxol und Menthoxol im Blutserum erst in stärkeren Concentrationen freier Sauerstoff entwickelt, als bei H_2O_2 allein und dass andererseits die desinficirende Kraft der beiden ersteren Präparate der des letzteren auch im serösen Exsudate wesentlich überlegen ist. Wir müssen uns diese Erscheinung damit erklären, dass mit der Zunahme der katalytischen Wirkung des H_2O_2 auch seine baktericide Kraft geschwächt wird, während die erstere bei den Peroxolen sich nur langsam und allmählich bei der Zersetzung des H_2O_2 in serösen Exsudaten geltend macht und daher auch die desinficirende Wirkung des Mittels eine ausgiebigere ist.

Was die Giftwirkung unserer Präparate im Thierkörper betrifft, so konnten 5 ccm einer 10prozentigen Lösung der Peroxole Kaninchen intravenös ohne Nachtheil injicirt werden. Ebenso wurden 5 und 10 ccm der gleichen Lösung in die Bauchhöhle von Kaninchen gespritzt und gut vertragen, nach subcutaner Injection der gleichen Mengen war einige Stunden nach der Einspritzung ein leichtes Hautemphysem zu fühlen, das nach 24 Stunden wieder verschwunden war, eine Folge der Entwickelung von O; eine Nekrotisirung des Gewebes fand niemals statt.

Die Einwirkung der Peroxole auf die Schleimhaut des Mundes habe ich an mir selbst erprobt, eine 10procentige Lösung wirkt nicht ätzend, nur



unangenehm schmeckend in Folge des metallischen Geschmacks des H_2O_2. 5procentige Lösungen wirken schon sicher desinficirend auf die Schleimhäute, und ich habe Anginen durch Gurgelungen mit 2 bis 5procentiger Lösung von Menthoxol in kürzester Zeit beseitigt. Ich möchte daher besonders das letztere Mittel hauptsächlich auch wegen seiner desodorificirenden Eigenschaften zur Desinfection der Nase, des Mundes und des hinteren Nasenrachenraumes empfehlen. Ueble Einwirkung auf den Magen habe ich auch nach Verschlucken mehrerer Tropfen der concentrirten Lösungen nicht verspürt.

Was zum Schluss die Haltbarkeit der Präparate betrifft, so habe ich bei einer $^1/_4$ und $^1/_2$ Jahr später angestellten Nachprüfung keine erheblichen Unterschiede in der desinficirenden Wirkung derselben gesehen. Trotzdem die Präparate nur in gewöhnlichen weissen Gläsern mit Korkenverschluss aufbewahrt worden waren, konnte ich bei der wiederholten Berechnung des Sauerstoffvolumens selbst nach $^1/_2$ Jahr sowohl in dem H_2O_2 als auch in den combinirten Lösungen nur ganz unerhebliche Differenzen constatiren. Ich glaube diesen Umstand hauptsächlich der sorgfältigen Herstellung des H_2O_2 anrechnen zu dürfen und dies besonders auch desshalb betonen zu müssen, da gerade die leichte Zersetzbarkeit des H_2O_2 bis jetzt der allgemeinen Anwendung desselben als Desinficiens im Wege stand.

Ohne selbst eingehendere Untersuchungen nach dieser Richtung angestellt zu haben, halte ich die Peroxole auch sehr geeignet zur Desinfection der Hände, vor allem auch deswegen, weil durch den Alkoholzusatz der Präparate das Fett aufgelöst und so das Mittel tiefer in die Poren der Haut eindringen kann.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Ueber das Schumburg'sche Verfahren der Wasserreinigung mittels Brom.

Von

Stabsarzt Dr. **Schüder.**

Schumburg hat in der Deutschen medicinischen Wochenschrift,[1] in der Deutschen militärärztlichen Zeitschrift[2] und in den Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens[3] ein Verfahren der Wasserreinigung durch Bromzusatz bekannt gegeben, welches darauf basirt ist, dass 0·06 freies Brom auf ein Liter Wasser in 5 Minuten fast sämmtliche Wasserbacterien und sämmtliche bisher im Wasser nachgewiesenen pathogenen Keime sicher abtödtet. Das Brom wird nach gethaner Wirkung durch Zusatz von geeigneten Chemikalien (anfangs Ammoniak, später Natrium sulfuros. und Natrium carbon. siccum) entfernt bezw. unschädlich gemacht.

A. Pfuhl[4] hat dies Verfahren einer Nachprüfung unterzogen und ist auf Grund seiner insgesammt 108 Versuche und 96 Controlen umfassenden Untersuchungen im Ganzen zu dem gleichen Resultat wie Schumburg mit seinen über 200 Versuchen gekommen, so dass er am Anfang seiner Arbeit schreibt, dass unter den chemischen Mitteln zur Wasserreinigung, d. h. zur Abtödtung etwa in demselben enthaltener Krankheitskeime, ohne das Aussehen und den Geschmack des Wassers zu verderben, das

---

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 10 u. Nr. 25.

[2] *Deutsche militär-ärztliche Zeitschrift.* 1897.

[3] Plagge und Schumburg, Beiträge zur Frage der Trinkwasserversorgung. *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Heft. 15.

[4] *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXIII. S. 53ff.



von Schumburg angegebene Verfahren die erste Stelle einnimmt, und dass er seine Arbeit schliesst mit den Worten: „Schumburg schulden wir Dank, dass er durch mühevolle Ausarbeitung eines so vortrefflichen Verfahrens einem der fühlbarsten Mängel der öffentlichen und privaten Gesundheitspflege Abhülfe geschaffen hat.“

Die Herstellung keimfreien Trinkwassers nach Schumburg's Verfahren ist nach den Angaben von Dr. Kade's Oranien-Apotheke in Berlin SO. 26 durch Patentanmeldungen und Patente in allen Culturstaaten geschützt und daher nur mit Benutzung der von genannter Firma hergestellten Reagentien gestattet. Diese Reagentien sind nun in verschiedener Art für kleinere und grössere Mengen Wassers gebrauchsfertig zusammengestellt.

Dr. Pfuhl giebt hiervon in seiner Arbeit eine genauere Beschreibung und fasst sein Urtheil dahin zusammen, dass die von der Oranienapotheke gelieferten Gebrauchsgegenstände und Chemikalien alles umfassen, was selbst für die schwierigsten Verhältnisse und Möglichkeiten des praktischen Lebens hinsichtlich der schnellen und sicheren Gewinnung eines guten Trinkwassers zur Zeit billiger Weise verlangt werden darf.

Bei der weittragenden hygienischen Bedeutung, welche das Schumburg'sche Verfahren, wenn es sich völlig bewährt haben würde, besitzt, man denke nur an die Wasserversorgung von Truppen bei Uebungen und im Felde, bei Expeditionen in den Tropen, von Schiffen in verseuchten Häfen, bei Epidemien u. s. w., ist es auffällig, dass nicht mehr über Nachprüfungen dieses Verfahrens in der Litteratur bekannt geworden ist. Ich wenigstens habe ausser der Arbeit von Pfuhl in der mir zugänglichen Litteratur nichts weiter hierüber gefunden. Allerdings sagt die Firma Dr. Kade in den ihren Reagentien beiliegenden Prospecten, dass die Zuverlässigkeit der Schumburg'schen Methode durch vielfache, von berufener Seite erfolgte Nachprüfungen bestätigt worden sei.

Ich habe mich daher an eine Nachprüfung des Schumburg'schen Verfahrens gemacht und versucht, in drei grösseren Versuchsreihen die keimvernichtende Macht des Broms im Wasser zu erproben. In der ersten Versuchsreihe arbeitete ich mit Wasser verschiedener Herkunft ohne Zusatz von pathogenen Keimen, in der zweiten mit Zusatz von Choleravibrinen und in der dritten von Typhusbakterien.

Die Versuche wurden mit den Reagentien, wie die Oranienapotheke sie liefert und wie sie für die Praxis nur in Frage kommen können, angestellt und zwar mit den für je 1 und je 5 Liter in zugeschmolzenen Glasröhren dosirten Bromlösungen.

Herr Prof. Proskauer hatte auf meine Bitte die Güte, den Gehalt des Inhalts einzelner Röhrchen, welche aus verschiedenen Verpackungen



herausgenommen waren, an freiem Brom zu bestimmen. Es ergab sich, dass sich in 3 für je 1 Liter Wasser berechneten Röhrchen anstatt 0·06 grm, 0·08, 0.084 und 0.084 grm freies Brom befanden, dagegen 3 für je 5 Liter Wasser bestimmte Röhrchen anstatt 0·3 grm nur 0·24, 0·25 und 0.264 grm freies Brom enthielten. Die Röhrchen waren bei der Bestimmung des Bromgehalts unter Jodkalilösung zerbrochen worden, so dass jedes Entweichen freien Broms ausgeschlossen war. Da die genauere Dosirung freien Broms in den einzelnen Glasröhrchen ausserordentlich schwierig sein dürfte, so ist es nicht zu verwundern, wenn die Analysen nicht genau 0·06 freies Brom für den Liter Wasser berechnet ergeben. Allerdings dürfte die Menge des freien Broms wohl etwas höher als 0·06 pro Liter, jedoch nicht niedriger bemessen sein. Ich habe auf Grund dieser Analysen bei meinen Versuchen beim Arbeiten mit den für 5 Liter Wasser bestimmten Röhrchen auf je 1 solches noch ein Röhrchen, welches für 1 Liter Wasser berechnet ist, hinzugefügt, um sicher zu gehen, dass ich auch wirklich 0·06 freies Brom für je 1 Liter verwandte. Dagegen sind die kleineren 0·08 grm Brom enthaltenden Röhrchen stets nur zu 0·06 grm gerechnet.

Sämmtliche Versuche wurden in gut verschliessbaren Glasgefässen angestellt, um einmal durch fleissiges Umschütteln während des Versuchs eine gründliche Mischung des Brom mit allen Theilen des zum Versuch dienenden Wassers, was namentlich für die Versuche mit pathogenen Keimen wichtig erschien, zu erreichen und andererseits, um ein Entweichen von Brom während des Versuchs zu verhindern.

Zu den Versuchen wurde Wasser verschiedener Herkunft benutzt. Es wurde auf verschieden grosse Härte und wechselnden Gehalt an organischen Substanzen Gewicht gelegt. So wurde benutzt:

1. Destillirtes Wasser.
2. Brunnenwasser.
3. Wasser aus der hiesigen Wasserleitung.
4. Wasser aus dem Spandauer Schifffahrtscanal.
5. Wasser aus einem Tümpel bei Plötzensee.

Die zu den Versuchen benutzten Wassermengen betrugen 1, 2 und 5 Liter.

Die Auflösung der Tabletten zum Unschädlichmachen des Broms erfolgte stets in sterilisirtem Wasser und Röhrchen; ausserdem wurden diese Lösungen noch aufgekocht, da den Tabletten noch Keime anhaften konnten. So konnten dem bromirten Wasser nicht nachträglich noch entwickelungsfähige Keime zugesetzt werden.

Ich habe mich nun bei meinen Versuchen nicht auf die von Schumburg angegebene Brommenge von 0·06 pro Liter und eine Einwirkungs-



dauer von 5 Minuten beschränkt, sondern auch mit grösseren Brommengen und längerer Einwirkung gearbeitet. Eine ganze Anzahl der Versuche wurden der eigenen Controle halber wiederholt; dieselben sind in den folgenden Tabellen durch den den Nummern der einzelnen Versuche hinzugefügten Buchstaben a kenntlich gemacht.

Tabelle I.

Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge in Liter	Brommenge pro Liter	Einwirkungsdauer in Minuten	Keimgehalt des Wassers vorher	Keimgehalt des Wassers nachher
1	Destillirtes	1	0·06	5	623	0
1a	„	1	0·06	5	254	12
2	Brunnen	1	0·06	5	59	29
3	Leitung	1	0·06	5	130	2
3a	„	1	0·06	5	40	0
4	Canal	1	0·06	5	8 486	24
4a	„	1	0·06	5	3 176	23
5	Tümpel	1	0·06	5	28 152	15686
6	Brunnen	5	0·06	5	12	0
7	Leitung	5	0·06	5	107	3
8	Canal	5	0·06	5	7 971	1
9	Brunnen	5	0·06	10	12	0
10	Leitung	5	0·06	10	107	3
11	Canal	5	0·06	10	7 971	3
12	Tümpel	5	0·06	10	28 152	4584
13	Destillirtes	1	0·06	15	816	0
14	Leitung	1	0·06	15	21	0
15	Canal	1	0·06	15	13 570	0
16	Destillirtes	1	0·12	5	115	1
17	Leitung	1	0·12	5	21	0
18	Canal	1	0·12	5	12 360	0
19	Tümpel	1	0·12	5	28 251	0
19a	„	1	0·12	5	28 251	272
20	Brunnen	5	0·12	5	17	15
21	Leitung	5	0·12	5	108	3
22	Canal	5	0·12	5	7 971	4
23	Destillirtes	1	0·12	15	115	0
24	Leitung	1	0·12	15	21	0
25	Canal	1	0·12	15	12 360	545
26	Tümpel	1	0·12	15	50 460	464
27	Leitung	5	0·18	5	12	0
28	Canal	5	0·18	5	20 380	0
28a	„	5	0·18	15	20 380	0
29	Tümpel	5	0·18	15	50 460	0



I.

In der ersten Versuchsreihe wurde zunächst zu ermitteln versucht, in wie weit das Bromverfahren geeignet ist, Wasser von verschiedenem Keimgehalt von diesen Keimen zu befreien. Der Keimgehalt des Wassers vor und nach Anwendung des Bromverfahrens wurde durch das gewöhnliche Gelatineplattenverfahren ermittelt. Von dem bromirten Wasser wurden je 2 ccm zu einer Platte verarbeitet. Siehe die Resultate in Tabelle I.

Aus dieser Tabelle ergiebt sich, dass es unter 34 Versuchen, darunter solche mit doppelten und dreifachen Brommengen und einer Einwirkungsdauer bis zu 15 Minuten, 16 Mal gelang, ein keimfreies Wasser zu erzielen. Bei Anwendung der von Schumburg angegebenen Brommenge von 0·06 und 5 Minuten Einwirkung wurde das Wasser unter 11 Malen (Nr. 1 bis 8) 3 Mal keimfrei. Im Ganzen ist eine nicht unerhebliche Herabsetzung des Keimgehalts zu constatiren, doch stehen dem auch einzelne Versuche gegenüber, wo trotz längerer Einwirkung (Nr. 12) und grösserer Brommenge (Nr. 19a, 25, 26) der Keimgehalt im bromirten Wasser ein noch ziemlich erheblicher war. Auch Schumburg[1] hat die Beobachtung gemacht, dass sich im Spreewasser einige Keime von ganz besonderer Widerstandskraft gegen Brom fanden.

Dass das bromirte Wasser in meinen 16 Versuchen, in denen keine Keime mehr auf den Platten zur Entwickelung gekommen waren, wirklich völlig keimfrei war, habe ich ohne Weiteres angenommen. Es könnte dies allerdings bezweifelt werden, wenn man bedenkt, dass von Wassermengen bis zu 5 Litern, jedes Mal nur 2 ccm zu Gelatineplatten verarbeitet wurden. Es wäre jedenfalls denkbar, dass an anderen Stellen des bromirten Wassers sich noch entwickelungsfähige Keime befunden hätten; und dass dieser Gedanke durchaus nicht von der Hand zu weisen ist, dafür sprechen die Erfahrungen, welche mit der nächsten Versuchsreihe gemacht wurden.

II.

In der zweiten Versuchsreihe wurde die Einwirkung des Broms auf Choleravibrionen im Wasser erprobt. Die Versuchsanordnung war folgende: Je eine 24 Stunden bei 37° auf Agar gewachsene Cultur wurde vorsichtig aufgeschwemmt dem Wasser zugesetzt und in demselben durch längeres, kräftiges Umschütteln möglichst fein vertheilt; bei einer Reihe von Versuchen wurden nur 3 und 1 Oese einer solchen Culturaufschwemmung dem Wasser zugesetzt.

[1] *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Hft. 15. S. 105.



Zum Nachweis der im bromirten Wasser etwa noch lebend gebliebenen Vibrionen wurde das Pepton-Anreicherungsverfahren und die Cholerarothreaction benutzt. Anfangs wurden nebenher auch noch Gelatineplatten angelegt (Versuch 1 bis 12 der Tabelle II). Die angewandte Untersuchungsmethode erlaubte das ganze bromirte Wasser nach lebend gebliebenen Choleravibrionen abzusuchen, und hierauf ist das grösste Gewicht zu legen, wie die Versuche klar erkennen lassen. Im Einzelnen gestaltete sich das Verfahren so, dass nachdem das Brom im Wasser durch den Zusatz der aufgelösten Tabletten unwirksam gemacht war, dem inficirten Wasser etwas gesättigte Sodalösung zugesetzt wurde, um für das Anreicherungsverfahren eine gute alkalische Reaction herzustellen. Dann wurde die ganze Wassermenge in kleine, 100 bis 200 ccm haltende Kölbchen vertheilt, und einem jeden soviel einer concentrirten Pepton-Kochsalzlösung zugesetzt, dass eine 1 procent. Pepton-Kochsalzlösung entstand. Die Kölbchen wurden 24 Stunden bei 37° gehalten und dann von der Oberfläche eines jeden 3 Oesen in Röhrchen mit 1 Procent Pepton-Kochsalzlösung übertragen, welche wiederum 24 Stunden bei 37° gehalten wurden. Nachdem die zweite Uebertragung stattgefunden, wurde mit den einzelnen Kölbchen die Cholerarothreaction angestellt, und wo eine solche nicht eintrat, wurde dieselbe mit dem entsprechenden Röhrchen am nächsten Tage noch einmal versucht. Diese Vorsicht erwies sich als durchaus erforderlich, denn es gelang mir verschiedene Male erst nach der zweiten Anreicherung, eine Rothreaction zu erzielen. Auch stellte es sich bald heraus, dass es zweckmässiger war, das zum Ausreichern und zu Rothreaction bestimmte Wasser in eine Anzahl kleiner Kolben zu vertheilen, als eben mit der ganzen Wassermenge in einem grösseren Gefäss diesen Versuch zu machen.

Selbstverständlich wurde von jedem zum Versuch benutzten Wasser durch Controlkölbchen festgestellt, dass in demselben keine Rothbildner vorhanden waren.

Die Resultate dieser Versuche enthält die Tabelle II.

Das Resultat dieser Versuchsreihe ist also ein höchst ungünstiges. Bei 59 Versuchen gelang es nur 11 Mal, die Choleravibrionen zu vernichten. Mit der von Schumburg angegebenen Brommenge und 5 Minuten Einwirkungsdauer gelang dies bei Zusatz einer Agarcultur niemals, und auch bei Zusatz von nur 1 Oese zu 1 Liter Wasser gleichfalls nicht. Nur 2 Mal vermochte das Verfahren nach Schumburg's Angaben je 1 Oese Choleraaufschwemmung in 5 Liter Wasser zu vernichten. In allen anderen Fällen gelang es nur mit grösseren Brommengen bezw. längerer Einwirkungsdauer, die Choleravibrionen zu vernichten. Und auch diese Resultate waren



noch nicht ganz sichere, wie die Versuche 28 und 28a zeigen, die unter gleichen Bedingungen durchgeführt ein Mal ein negatives, das andere Mal ein positives Resultat ergaben. Diesen wenigen Erfolgen stehen die zahlreichen Misserfolge gegenüber, bei denen sogar die 4-, 6- und 8fachen Mengen der von Schumburg angegebenen Bromdosis versagt haben (Nr. 32 bis 40), und wo selbst die doppelte Brommenge in 10 Minuten nicht 1 Oese Culturaufschwemmung in 5 Liter Wasser zu vernichten vermochte (Nr. 51 u. 52). Ganz besonders beachtenswerth ist bei diesen Versuchen, dass nicht immer alle bei einem Versuche angesetzten Kölbchen die Rothreaction gaben, sondern oft nur einzelne, so z. B. beim Versuch 18 von 31 Stück nur 13, beim Versuch 32 von 42 Stück nur 4, beim Versuch 40 von 12 Stück nur 1.

Dies beweist, dass in einem grossen Theil des Wassers die Choleravibrionen abgetödtet sein können, in anderen Theilen nicht, und dass es zur Gewinnung eines beweisenden Resultates nöthig ist, die gesammte inficirte Wassermenge auf entwickelungsfähige Keime zu untersuchen. Diese Forderung lässt sich allerdings ohne besonders grosse Zeit- und Materialverschwendung nur für Cholera durchführen, und daher ist für Untersuchungen über Wasserreinigung von pathogenen Keimen die Cholera ein ausgezeichnetes Versuchsobject.

Wie sind nun die grossen Widersprüche zwischen den Resultaten Schumburg's und Pfuhl's und den meinigen zu erklären? Um dieselben leichter verständlich zu machen, muss ich zunächst einige Sätze aus den Arbeiten der beiden Autoren hier anführen. Schumburg[1] sagt: „Auffällig war mir bei der Untersuchung die Einwirkung des Broms auf Choleravibrionen, dass diese sonst so empfindlichen Mikroben durch 0·06 freien Broms gelegentlich nicht ganz abgetödtet wurden, wie in den Versuchen 36, 38 und 45 der grossen Tabelle bei Einsaat in Bacillen. Bei Nachprüfung des Verfahrens von anderer Seite wurde sogar angegeben, dass bei den Choleravibrionen das Verfahren mit Brom geradezu versage; es gelang dabei, durch die Cholerarothreaction immer noch Vibrionen in dem desinficirten Wasser nachzuweisen, ja selbst wenn die 4- und die 8fache Dosis des Broms zugesetzt war. Dies Resultat erschien sehr auffällig, obschon ich selbst bei der Nachprüfung dasselbe zunächst auch nur bestätigen konnte. Nach vielfachen vergeblichen Versuchen, die Ursache dieser den Choleravibrionen sonst nicht eigenthümlichen Resistenz aufzufinden, gelang es mir endlich, etwas Licht in das Dunkel zu bringen und zu zeigen, dass die Choleravibrionen in der That keine Ausnahme

[1] *Veröffentlichungen a. d. Gebiete d. Militär-Sanitätswesens.* Hft. 15 S. 105—107.



Tabelle II.

Nummer	Art des Wassers	Versuchs-menge in Liter	Zugesetzte Cultur-menge Cultur	Brom-menge pro Liter	Ein-wirkungs-dauer in Minuten	Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl der Roth-reaction gebenden Kölbchen
1	Destillirtes	1	1	0·06	5	10	10
1a	"	1	1	0·06	5	6	6
2	Leitung	1	1	0·06	5	9	7
2a	"	1	1	0·06	5	10	10
3	Canal	1	1	0·06	5	11	8
3a	"	1	1	0·06	5	10	9
4	Brunnen	1	1	0·06	5	10	10
5	Destillirtes	1	1	0·06	10	13	10
6	Brunnen	1	1	0·06	10	12	4
7	Leitung	1	1	0·06	10	13	8
8	Canal	1	1	0·06	10	12	7
9	Destillirtes	1	1	0·06	15	12	10
10	Leitung	1	1	0·06	15	6	6
11	Canal	1	1	0·06	15	6	6
12	Destillirtes	1	1	0·12	5	6	0
13	Leitung	1	1	0·12	5	9	3
13a	"	1	1	0·12	5	13	10
14	Canal	1	1	0·12	5	7	6
15	Tümpel	1	1	0·12	5	7	3
16	Leitung	2	1	0·12	5	28	15
17	Destillirtes	2	1	0·12	5	29	11
18	Canal	2	1	0·12	5	31	13
19	Leitung	5	1	0·12	5	12	0
20	"	5	1	0·12	10	12	4
20a	"	5	1	0·12	10	13	10
21	Brunnen	5	1	0·12	10	12	2
22	Canal	5	1	0·12	10	10	0
23	Destillirtes	1	1	0·12	15	8	1
24	Leitung	1	1	0·12	15	8	7
25	Canal	1	1	0·12	15	6	2
26	Tümpel	1	1	0·12	15	7	1
27	Destillirtes	1	1	0·18	5	7	3
28	Leitung	1	1	0·18	5	5	0
28a	"	1	1	0·18	5	14	13
29	Canal	1	1	0·18	5	7	2
30	Tümpel	1	1	0·18	5	6	5
31	Leitung	1	1	0·18	10	13	8
32	Canal	5	1	0·18	15	42	4
33	Leitung	1	1	0·24	5	12	12
34	"	1	1	0·24	10	11	0
35	Destillirtes	1	1	0·24	10	13	2
36	Canal	1	1	0·24	10	13	2

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Nummer	Art des Wassers	Versuchsmenge in Liter	Zugesetzte Culturmenge Cultur	Brommenge pro Liter	Einwirkungsdauer in Minuten	Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl der Rothreaction gebenden Kölbchen
37	Leitung	1	1	0·36	5	13	2
38	Canal	1	1	0·36	10	15	5
39	Leitung	1	1	0·48	5	11	0
40	Canal	1	1	0·48	10	12	1
41	Destillirtes	1	1 Oese	0·06	5	11	0
42	Brunnen	1	1 "	0·06	5	10	0
43	Leitung	1	1 "	0·06	5	13	6
44	Canal	1	1 "	0·06	5	12	5
45	Brunnen	5	1 "	0·06	5	11	7
46	Leitung	5	1 "	0·06	5	10	0
47	Canal	5	1 "	0·06	5	11	0
48	Leitung	1	1 "	0·12	5	13	3
49	"	1	1 "	0·12	10	12	3
50	Canal	1	1 "	0·12	10	14	4
51	Brunnen	5	1 "	0·12	10	10	4
52	Leitung	5	1 "	0·12	10	11	5
53	Canal	5	1 "	0·12	10	11	0

bezüglich ihrer Widerstandsfähigkeit gegen Brom bilden. Sowohl in meinen Versuchen Nr. 36, 38 und 45, wie auch in denjenigen der Nachprüfung von anderer Seite, waren abgeschabte Choleraagarculturen, ohne sie zu filtriren, in Leitungswasser aufgeschwemmt. In diesem Wasser konnte man schon mit blossem Auge kleine Culturpartikelchen erkennen. Fügt man nun zu einer solchen Agarcultur-Aufschwemmung Brom hinzu, so werden sich jene Culturbröckchen mit einem Ueberzug von Brom-Eiweiss bedecken, und zwar in so höherem Maasse, je concentrirter die zugesetzte Bromlösung ist; es werden dann die innen liegenden Individuen durch die Brom-Eiweissschicht vor der Einwirkung des Broms geschützt. Bringt man ein solches Bröckchen dann nachher in Bouillon oder Peptonwasser, so ist es möglich, dass die innen liegenden lebensfähigen Vibrionen den Ausgangspunkt für eine neue Anreicherung bilden."

Schumburg erhärtet nun diese seine Ansicht dadurch, dass er 1 Liter Leitungswasser mit Choleraagarcultur-Aufschwemmung versetzte, die eine Hälfte filtrirte, die andere nicht, und nun beide nach dem Anreicherungsverfahren behandelte und die Rothreaction anstellte. Das unfiltrirte Wasser ergab deutliche Rothreaction, das filtrirte nicht. Schumburg fährt nun fort: „Die Choleravibrionen werden also durch 0·06 Brom ebenso sicher in 5 Minuten abgetödtet, wie die übrigen



pathogenen Bakterien . . . Dieser Versuch ist aber noch aus einem anderen Grunde lehrreich. Er macht uns wieder darauf aufmerksam, dass wir stets, wie schon andere Untersucher hervorgehoben haben, Bakterienaufschwemmungen, die zu Desinfectionszwecken benutzt werden sollen, vorher von den groben Bröckchen durch Filtration befreien sollen."

Aehnlich äussert sich A. Pfuhl in seiner Arbeit. Er sagt[1]: „Das Schlussergebniss vorstehender 61 Versuche und 53 Controlversuche (unter Hinzurechnung der Prüfungsversuche im Juli 1897 erhöhen sich die Zahlen auf 108 Hauptversuche und 96 Controlen) lässt sich folgendermaassen zusammenfassen: In den nach Schumburg'scher Vorschrift behandelten Wässern verschiedenster Herkunft mit einem Maximalgehalt von 3·524 organischer Substanz bei einer Gesammthärte von 31.36°, denen Reinculturen von Cholera, Typhus und Staphylococcus pyogenes aureus, sowie mit Choleravibrionen vermischter Stuhlgang und typhusbacillenhaltiger Urin zugesetzt waren, kamen bei Entnahme von 1 ^{ccm} Wasser auf den Gelatineplatten nur 6 Mal (3 Mal Cholera-, 3 Mal Typhusbacillen) zum Wachsthum, während 4 Mal über die Natur der angegangenen Colonieen Zweifel bestanden. Alle übrigen Cholera- und Typhusaussaaten, sowie die Staphylococcenaussaat erwiesen sich als abgestorben. Die Saprophyten waren in allen Proben stets ganz erheblich vermindert, mitunter bis auf wenige Keime." Die 10 Misserfolge schiebt Pfuhl ausschliesslich auf Besonderheiten der Versuchsanordnung selbst. Betreffend die misslungenen Versuche mit Cholera stellt er sich auf den Schumburg'schen Standpunkt und macht dessen vorhin beschriebenen Versuch mit dem gleichen Erfolg nach, und zieht dann auf Seite 76 seiner Arbeit den Schluss, dass durch seine Untersuchungen der Beweis geliefert sei, „dass das Bromverfahren Reinculturen von Cholera- und Typhusbacillen in verschiedenen Wasserarten sicher zu vernichten im Stande ist".

In diesen Ausführungen, meine ich, haben Schumburg und Pfuhl dem Bromverfahren selbst das Urtheil gesprochen. Es erklärt sich hierdurch auch zunächst für Cholera der Widerspruch zwischen den Ergebnissen meiner Untersuchungen und denen der beiden genannten Autoren, sowie der von ihnen gezogenen Schlussfolgerungen über den Werth des Bromverfahrens gegenüber den meinigen.

A. Pfuhl hat von dem bromirten Wasser, welches er auf etwa lebend gebliebene Keime untersuchen wollte, immer nur je 1 ^{ccm} zu Platten verarbeitet. Welche Mengen Schumburg dazu verwandt, geht nicht bestimmt aus seinen Angaben hervor; er sagt nur auf Seite 34 seiner Arbeit im Allgemeinen, dass bei den Versuchen mit pathogenen Bakterien stets Platten gegossen wurden, um die gewachsenen Keime identificiren

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIII. S. 81.

zu können. Es kann sich daher auch nur um Aussaaten von einem bis höchstens mehreren Cubikcentimetern gehandelt haben. Dass hierin schon ein Versuchsfehler lag, ist nach meinen Resultaten wohl nicht zu bezweifeln. Trotzdem aber ist es Schumburg und A. Pfuhl mehrere Male passirt, dass auf den Platten Choleravibrionen zum Wachsthum kamen. Dass Letzteres nicht viel häufiger der Fall gewesen, kann nur daran gelegen haben, dass die Aussaatmengen so kleine waren. Hätten Schumburg und A. Pfuhl statt einem oder weniger Cubikcentimeter die ganze mit Choleravibrionen inficirte Wassermenge durchsucht, so würden sie wohl auch jedes Mal wie ich entwickelungsfähige Cholerakeime haben nachweisen können. Schumburg und A. Pfuhl schieben nun die Schuld an dem Misslingen ihrer Versuche darauf, dass sich in den benutzten Bakterienaufschwemmungen gröbere Bröckel befunden hätten, welche eine genügende Einwirkung des Broms verhindert hätten. Sie filtrirten daher ihre Aufschwemmungen durch ein doppeltes Filter von Fliesspapier und konnten nun in dem mit Brom behandelten Filtrat auch mittels des Anreicherungsverfahrens und der Cholerarothreaction keine lebend gebliebene Choleravibrionen mehr nachweisen, während dies in dem unfiltrirten Wasser sehr gut gelang. Aus diesem Versuch zogen beide Autoren nun den Schluss, dass die Choleravibrionen durch 0·06 Brom ebenso sicher abgetödtet werden wie die Typhusbacillen und die übrigen untersuchten pathogenen Bakterien.

Mit dieser Versuchsanordnung und Beweismethode werden aber die Anforderungen der Praxis, für welche das Bromverfahren doch bestimmt sein soll, ganz aus den Augen verloren; denn wenn ein verdächtiges Wasser vor der Anwendung des Broms erst durch doppelte Filter von Fliesspapier filtrirt werden soll, ist das Bromverfahren für praktische Zwecke unbrauchbar. Welche Mengen Papier und Filter sollten wohl für den Bedarf grösserer Menschenmengen an Wasser mitgeführt werden? Wie viel verlangsamt würde dadurch die Herstellung eines brauchbaren Trinkwassers?

Schumburg sagt zwar auf Seite 109 seiner Arbeit: „Grobe sichtbare Verunreinigungen sind durch improvisirte Schnellfilter zu entfernen.“ Aber ein doppeltes Filter aus Filtrirpapier ist doch ganz etwas anderes!

Ausserdem habe ich bei meinen Untersuchungen gefunden, dass bei sorgfältiger Aufschwemmung von 24 Stunden alten Choleraculturen und nach längerem, kräftigen Umschütteln dieser Aufschwemmung in dem zu inficirenden Kolben mit Wasser höchst selten mit blossem Auge noch erkennbare Partikelchen sich finden, und bei den Versuchen mit Typhus war dies überhaupt niemals der Fall.



Mit solchen Verhältnissen wie bei den durch doppelte Filter filtrirten Aufschwemmungen, wo gewissermaassen die einzelnen Keime im Wasser schwebend dem Angriff des Broms ausgesetzt sind, wird in der Praxis selten zu rechnen sein. Es mag dies vielleicht vorkommen, wenn Wasser durch typhusbacillenhaltigen Harn verunreinigt ist, oder in einem Wasser eine grosse Vermehrung pathogener Keime an einzelnen Stellen stattgefunden hat. Bei den hauptsächlich im Wasser in Betracht kommenden pathogenen Keimen der Cholera, des Typhus, der Dysenterie geschieht die Infection des Wassers hauptsächlich durch Darmausleerungen, und in diesen befinden sich, wenn dieselben auch in Flüssen oder Gewässern stark verdünnt werden, die einzelnen Keime nicht immer so isolirt wie in einer filtrirten Culturaufschwemmung.

Aus diesen Gründen würde selbst der Nachweis, dass das Bromverfahren die pathogenen Keime in filtrirten Culturaufschwemmungen sicher vernichtet, noch nicht dafür beweiskräftig sein, dass dasselbe in auf natürliche Weise verunreinigtem Wasser der Fall ist.

Aber noch mehr; ich habe durch eine Reihe weiterer Versuche festgestellt, dass selbst die durch doppelte Filter gegangenen Aufschwemmungen von Choleravibrionen im Wasser durch das Bromverfahren nicht sicher vernichtet werden. Ehe ich diese Versuche sammt den Ergebnissen auch in einer kleinen Tabelle zusammenstelle, möchte ich noch auf die weitere Schlussfolgerung Schumburg's aus seinem zuletzt erwähnten Versuch zurückkommen, dass man nämlich, wie schon andere Untersucher angegeben haben, zu Desinfectionszwecken zu benutzende Bakterienaufschwemmungen filtriren soll. Ich meine, das Gegentheil ist richtig, denn wenn man den Werth eines Desinfectionsmittels erfahren will, soll man demselben die zu vernichtenden Bakterien nicht unter Umständen, wie dieselben am leichtesten zu vernichten sind, gegenüberstellen, sondern mindestens so wie sie in der Praxis zu vernichten sind, nämlich in den verschiedenen Absonderungen der Erkrankten, oder eher noch unter erschwerten Umständen. Erst dann wird man sich über den Werth eines Desinfectionsmittels für die Praxis nicht täuschen.

In der nun folgenden Tabelle III finden sich die Resultate der wie früher angeordneten Versuche mit Choleravibrionen. Die Aufschwemmungen wurden jedes Mal durch ein doppeltes Faltenfilter filtrirt.

Das Resultat ist also auch hier im Ganzen ebenso ungünstig wie in Tab. II. Nur zwei Mal versagte die Rothaction ganz, wie in dem einzigen von Schumburg angeführten Versuch, so dass angenommen werden konnte, sämmtliche eingesäeten Vibrionen waren nicht mehr lebensfähig geblieben.



Tabelle III.

Nummer	Art des Wassers	Versuchs-menge in Liter	Zugesetzte Cultur-menge	Brom-menge in Liter	Ein-wirkungs-dauer in Minuten	Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl der Roth-reaction gebenden Kölbchen
1	Destillirtes	1	1 Cultur	0·06	5	8	0
1a	„	1	1 „	0·06	5	9	2
2	Canal	1	1 „	0·06	5	11	9
3	„	1	1 „	0·12	5	9	3
4	Leitung	1	1 „	0·12	5	8	4
5	Brunnen	1	1 „	0·12	5	9	9
6	Leitung	1	1 „	0·18	5	8	0
7	Brunnen	1	1 „	0·18	5	9	9

Dem gegenüber stehen die anderen 6 Versuche, in denen sogar nicht ein Mal die doppelte und dreifache Brommenge alle Vibrionen vernichtete. Ein Theil derselben ist allerdings sicher vernichtet worden (vielleicht mit Ausnahme von Versuch 7), denn es blieben einzelne Kölbchen wieder ohne Rothreaction. Beachtenswerth ist, dass der erste gelungene Versuch bei der Wiederholung versagte.

III.

In der dritten Versuchsreihe wurden Typhusbakterien als Versuchsobject gewählt.

Es konnte zweifelhaft erscheinen, ob diese Versuche noch nöthig waren; denn wenn die im Ganzen als wenig widerstandsfähig bekannten Choleravibrionen dem Brom widerstanden, konnte man dies für Typhusbakterien von vornherein für wahrscheinlich halten.

Aber es wäre ja auch denkbar, dass die Choleravibrionen gerade dem Brom gegenüber eine besondere Widerstandsfähigkeit besässen, die den Typhusbakterien nicht zukommt, und wenn Letzteres der Fall, konnte dem Bromverfahren immerhin für praktische Zwecke ein gewisser Werth zukommen.

Bei der Versuchsanordnung bin ich auch hier von der Methode Schumburg's und A. Pfuhl's abgewichen. Letztere versuchten den Nachweis der in verschiedenen inficirten Wasserarten etwa noch lebend gebliebenen Typhusbakterien durch das gewöhnliche Plattenverfahren. Diese Methode hat gerade hier ihre grossen Schwierigkeiten, denn es ist bekannt, wie häufig sich bei Wasseruntersuchungen „typhusähnliche" Colonieen auf den Platten finden, und es würde sehr zeitraubend gewesen sein, wenn sich auf den Platten eine grössere Menge solcher typhusähn-

lichen Colonieen gefunden hätte, von jeder einzelnen festzustellen, ob es eine Typhuscolonie sei oder nicht. Ausserdem wollte ich nach meinen bisherigen Erfahrungen auch grössere Wassermengen zu Platten verarbeiten, und da wäre eventuell die Identificirung einer noch grösseren Anzahl von Colonieen fast unmöglich geworden, und so wandte ich folgendes Verfahren an.

Die zu inficirenden Wasserarten wurden in Glaskolben auf das Sorgfältigste sterilisirt und auf Keimfreiheit geprüft. Dann wurden die Aufschwemmungen von 24 Stunden alten, bei 37° auf Agar gewachsenen Typhusculturen in sterilem Wasser hinzugefügt. Was nun nach Anwendung des Bromverfahrens auf den Platten noch zur Entwickelung kam, konnte ohne Weiteres als Typhus angesprochen werden, denn auch die Auflösungen der Tabletten waren sorgsam sterilisirt. Anfangs legte ich neben Agarplatten, welche bei 37° gehalten wurden, noch Gelatineplatten an, um zu sehen, ob die zur Entwickelung kommenden Colonieen auch typhusähnlich auf der Gelatine wuchsen; später, nachdem dies festgestellt, beschränkte ich mich auf Agarplatten. Ich bemerke hier nochmals, dass die Aufschwemmungen der Typhusculturen niemals mit blossem Auge erkennbare Partikelchen zeigten.

Von dem bromirten Wasser wurden 1 bis 2 Agarplatten mit je 10 ccm in grossen Schalen gegossen. Diese Wassermenge reichte hier völlig aus, wie sich sofort zeigte; andernfalls würde ich noch grössere Mengen zu Platten verarbeitet haben.

Die Resultate der Versuche enthält die nächste Tabelle.

Tabelle IV.

Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge pro Liter	Zugesetzte Culturmenge	Brommenge pro Liter	Einwirkungsdauer in Minuten	Keimgehalt der Platten
1	Destillirtes	1	1 Cultur	0·06	5	30
1a	"	1	1 "	0·06	5	sehr zahlreich
2	Leitung	1	1 "	0·06	5	42
2a	"	1	1 "	0·06	5	30
3	Brunnen	1	1 "	0·06	5	sehr zahlreich
3a	"	1	1 "	0·06	5	" "
4	Canal	1	1 "	0·06	5	" "
4a	"	1	1 "	0·06	5	unzählbar
5	Destillirtes	1	1 "	0·06	10	"
6	Leitung	1	1 "	0·06	10	21
7	Brunnen	1	1 "	0·06	10	9
8	Canal	1	1 "	0·06	10	unzählbar
9	Destillirtes	1	1 "	0·12	5	50



Tabelle IV. (Fortsetzung.)

Nr.	Art des Wassers	Versuchs-menge pro Liter	Zugesetzte Cultur-menge	Brommenge pro Liter	Einwirkungs-dauer in Minuten	Keimgehalt der Platten
9a	Destillirtes	1	1 Cultur	0·12	5	unzählbar
10	Leitung	1	1 „	0·12	5	„
10a	„	1	1 „	0·12	5	„
11	Canal	1	1 „	0·12	5	„
11a	„	1	1 „	0·12	5	„
12	Destillirtes	1	1 „	0·18	5	sehr zahlreich
13	Leitung	1	1 „	0·18	5	unzählbar
14	Brunnen	1	3 Oesen	0·18	5	sehr zahlreich
15	Leitung	1	3 „	0·18	5	21
16	Canal	1	3 „	0·18	5	13
17	Leitung	1	1 Cultur	0·3	60	sehr zahlreich
18	Canal	1	1 „	0·3	60	„ „

Es ist also auch nicht in einem einzigen Versuch gelungen, die eingesäeten Typhuskeime mit Sicherheit zu vernichten, selbst nicht mit den 2 bis 5fachen Mengen Brom und bei einer Einwirkungsdauer bis zu 1 Stunde.

Der Vollständigkeit halber habe ich nun zuletzt noch einige Versuche mit filtrirten Aufschwemmungen an Typhusculturen gemacht. Dieselben fielen, wie die folgende Tabelle zeigt, gleich ungünstig aus, trotzdem gleich die dreifache Brommenge genommen wurde.

Tabelle V.

Nr.	Art des Wassers	Versuchs-menge pro Liter	Zugesetzte Cultur-menge	Brommenge pro Liter	Einwirkungs-dauer in Minuten	Keimgehalt der Platten
1	Destillirtes	1	1 Cultur	0·18	5	sehr zahlreich
1a	„	1	1 „	0·18	5	„ „
2	Brunnen	1	1 „	0·18	5	unzählbar
2a	„	1	1 „	0·18	5	„
3	Leitung	1	1 „	0·18	5	sehr zahlreich
3a	„	1	1 „	0·18	5	„ „
4	Canal	1	1 „	0·18	5	unzählbar
4a	„	1	1 „	0·18	5	„



Das Gesammtresultat meiner Untersuchungen fasse ich zum Schluss dahin zusammen:

1. Das Schumburg'sche Verfahren der Wasserreinigung mittels Brom versagt den Cholera- und Typhusbakterien gegenüber so gut wie ganz, und damit wahrscheinlich auch den übrigen im Wasser in Betracht kommenden Krankheitserregern, wie z. B. der Ruhr, des Weil'schen Icterus u. s. w.

2. Den von Schumburg und Pfuhl zur Prüfung des Verfahrens angewendeten Versuchen kann ich beweisende Kraft nicht zuerkennen, weil:

a) die zum Nachweis der Vernichtung der pathogenen Keime benutzten Wassermengen gegenüber den zum Versuch benutzten viel zu gering gewesen sind, und ausserdem sowohl Schumburg wie Pfuhl sogar hierbei Misserfolge gehabt haben;

b) weil beide Untersucher zum Theil durch Filtration der Aufschwemmungen der pathogenen Keime durch doppelte Filter von Filtrirpapier für die Versuche Verhältnisse geschaffen haben, wie sie in der Praxis für die Wasserreinigung durch Brom selten vorliegen werden.

3. Das Bromverfahren setzt den Gehalt eines auch stärker verunreinigten Wassers an gewöhnlichen Wasserbakterien sehr erheblich herab, auch wird zweifellos eine erhebliche Verminderung der Typhus- und Cholerakeime erzielt, jedoch nicht in dem Grade, dass ein inficirtes Wasser als Trinkwasser zu benutzen wäre.

4. Auch bei Anwendung doppelter Filter aus Filtrirpapier vor dem Bromverfahren versagt dasselbe in der Mehrzahl der Fälle.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Halle a/S.]
(Director: Prof. Dr. C. Fraenkel.)

Beitrag zur Frage des Ueberganges der im Serum gesunder und typhuskranker Wöchnerinnen enthaltenen Agglutinine auf den kindlichen Organismus.

Von

Dr. **H. Schumacher,**
ehemaligem Assistenten des Institutes, z. Z. Assistenten an der Universitäts-Frauenklinik zu Strassburg.

Die früher weit verbreitete Anschauung, dass die Gravidität einen gewissen Schutz gegen Infectionskrankheiten verleihe, hat sich im Laufe der Zeit immer mehr als irrig erwiesen, und heutzutage weiss man, dass Schwangere von Affectionen wie Pneumonie, Typhus, Cholera u. s. w. keineswegs verschont bleiben. An diese Erkenntniss musste sich unmittelbar die in theoretischer wie praktischer Hinsicht wichtige Frage anknüpfen, in welcher Weise der Fötus durch die mütterliche Erkrankung beeinflusst werde, und ob eine intrauterine Uebertragung der letzteren möglich sei oder nicht.

Eine ganze Reihe von Erfahrungen und klinischen Beobachtungen liess die Antwort schliesslich in bejahendem Sinne ausfallen und lehrte uns, dass die menschliche Placenta einen völlig sicheren und unübersteiglichen Schutzwall gegenüber den im mütterlichen Blute kreisenden pathogenen Mikroorganismen nicht gewährt, die letzteren vielmehr die entsprechende Krankheit auch im fötalen Organismus hervorzurufen vermögen.

Macht sich ein derartiges Verhalten der Placenta schon geformten Gebilden wie den lebenden Mikrobien selbst gegenüber bemerkbar, so wird man von vornherein annehmen dürfen, dass es in noch höherem



Maasse für die gelösten Krankheitsstoffe, für die Erzeugnisse der Bakterien und die unter deren Einfluss im Organismus entstehenden „Antikörper“ zutrifft.

Die bisher vorliegenden einschlägigen Beobachtungen zeigen indessen, dass die Verhältnisse keineswegs so einfache sind, und dass von Fall zu Fall mehr oder minder erhebliche Abweichungen vorkommen. Die Erkenntniss hat sich Bahn gebrochen, dass die Placenta auch für gelöste Substanzen nicht etwa ein todtes Filter darstellt, sondern über ein sehr entschiedenes Wahlvermögen verfügt, und dass deshalb die ganze Frage nur an der Hand sorgfältiger Prüfungen mit einiger Sicherheit beurtheilt werden kann. Solche Untersuchungen sind freilich in umfassenderem Maasse erst während der letzten Jahre möglich geworden, seit es eben der Forschung gelungen ist, namentlich die im Inneren des inficirten Körpers gebildeten Gegenstoffe genauer zu verfolgen, und vornehmlich die ausgehnte Anwendung der Widal'schen Probe hat uns hier ein ziemlich reichhaltiges Material verschafft. Allerdings trägt eben deshalb die bisher gewonnene Erkenntniss einen etwas einseitigen Charakter und bezieht sich im Wesentlichen nur auf die Verhältnisse beim Typhus. Sie wird aber mit einiger Vorsicht wohl auch auf andere Infectionskrankheiten Anwendung finden können und besitzt deshalb allgemeinere Bedeutung.

Gerade die Widal'sche Reaction bot insofern ein besonderes Interesse, als man ja eben hier bestimmte Beziehungen zwischen der eigenartigen Kraft des Blutes und dem Vorgang der natürlichen Heilung oder Immunisirung hat feststellen wollen und die Uebertragung dieser Fähigkeiten von der Mutter auf den Fötus dann also auch für den letzteren von entsprechenden Folgen hätte begleitet sein müssen.

Doch hat es bekanntlich nicht an gewichtigen Stimmen gefehlt, welche die eben erwähnte Voraussetzung als solche auf das entschiedenste bekämpft haben, und auch in manchen anderen theoretischen Fragen gehen die Anschauungen der berufensten Forscher auf diesem Gebiete noch vielfach weit auseinander.

Es kann nicht meine Absicht sein, hier den ganzen Streit der Meinungen aufzurollen und zu verfolgen. Aber dieser eine Punkt muss doch wohl zunächst erörtert werden, um die Ergebnisse verständlicher zu machen, zu denen mich meine eigenen Untersuchungen über den Transport der Gegenstoffe von der Mutter auf den Fötus bei typhösen und später auch bei gesunden Menschen geführt haben.

Einmal war es die eben schon gestreifte Frage nach der Bedeutung der agglutinirenden Substanzen überhaupt, welche die Forschung auf das lebhafteste beschäftigte und vielfach in durchaus widersprechender Weise beantwortet wurde. Während man nämlich auf der einen Seite in den

erwähnten Stoffen, wie sie im Blute erkrankter bezw. genesener Menschen oder künstlich immunisirter Thiere aufzutreten pflegen, den Ausdruck der erworbenen Immunität erblicken und die Agglutinine geradezu als die specifischen Schutzstoffe des Immunserums bezeichnen wollte, wurde eine solche Anschauung wie erwähnt von anderen und zwar, wie die weitere Entwickelung der Dinge gelehrt hat, wohl mit vollem Recht auf das nachdrücklichste bestritten.

Namentlich darf es als das Verdienst R. Pfeiffer's[1] hervorgehoben werden, von Anfang an gegenüber der von Gruber[2] vertretenen, bis zu einem gewissen Grade auch von Bordet[3], Metschnikoff[4], Trumpp[5], u. A. getheilten Annahme der Identität der agglutinirenden und immunisirenden Substanz auf Grund experimenteller Ermittelungen für eine strenge Scheidung beider Arten von Stoffen mit Bestimmtheit eingetreten zu sein. Immer häufiger wurde die Beobachtung gemacht, dass Agglutinationswirkung und immunisirende Schutzkraft eines Serums durchaus nicht stets einander parallel zu gehen brauchen, dass vielmehr sogar bei künstlicher Zerstörung, bezw. Herabminderung einer der beiden Kräfte die andere oft nur in ganz unerheblichem Maasse beeinträchtigt wird. Neben den Arbeiten der Pfeiffer'schen Schule sei in dieser Hinsicht vor allen Dingen der Mittheilungen von Stern[6], Widal und Nobécourt[7], E. Fraenkel und M. Otto[8], u. a. gedacht, welche übereinstimmend zu dem Ergebniss gelangen, dass die agglutinirenden Fähigkeiten eines Serums nicht etwa ohne Weiteres auch als Maassstab für seine immunisirende Kraft zu betrachten seien, oder gar einen Rückschluss auf die Immunität des betreffenden Individuums gestatten. Hiermit steht übrigens auch die Thatsache in Einklang, auf die eben Widal aufmerksam gemacht und

[1] A. Pfeiffer, Ein neues Grundgesetz der Immunität. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896. Nr. 7 u. 8.

[2] Gruber, Theorie der activen und passiven Immunität gegen Cholera, Typhus und verwandte Krankheitsprocesse. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIX. S. 579.

[3] Bordet, Sur le mode d'action des sérums préventifs. *Ebenda.* Bd. XX. S. 760.

[4] Metschnikoff, Recherches sur l'influence de l'organisme sur les toxines. *Annales de l'Institut Pasteur.* Bd. XI. Nr. 11.

[5] Trumpp, Das Phänomen der Agglutination und seine Beziehungen zur Immunität. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1898. S. 609.

[6] Stern, Diagnostische Blutuntersuchungen beim Abdominaltyphus. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXI. S. 478.

[7] Widal et Nobécourt, Dissociation de la proprieté immunisante et de la proprieté agglutinante. *La semaine médicale.* 1897. p. 295.

[8] E. Fraenkel und M. Otto, Experimenteller Beitrag zur Lehre von der Agglutinationswirkung des Typhusserums. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIII. S. 230.

zuerst nachdrücklich hingewiesen hat, dass in dem Serum von Typhuskranken agglutinirende Fähigkeiten auftreten. Die seinerzeit zu lösende Frage, ob die Entstehung dieser letzteren durch die Infection oder die Heilung des Organismus bedingt sei, ist jetzt dahin endgiltig entschieden, dass wir es hier, um den ursprünglichen von Widal verwendeten Ausdruck zu gebrauchen, nicht mit einem phénomène d'immunité, sondern einem phénomène d'infection zu thun haben.

Sind wir somit im Allgemeinen nicht berechtigt, nach der Agglutinationskraft des Serums ohne Weiteres die Immunität des Individuums zu bewerthen, so darf immerhin der Nachweis agglutinirender Stoffe für die Beurtheilung einer Blutprobe ganz besondere Bedeutung beanspruchen. Die Ermittelung der Agglutinationskraft des Serums gestattet uns ohne Zweifel einen Einblick in gewisse reactive Vorgänge und Veränderungen, wie sie innerhalb des Organismus unter dem Einfluss der Infection zur Entwickelung gelangen, und gerade die Widal'sche Probe stellt eine so einfache und jederzeit leicht auszuführende Form der Blutuntersuchung dar, dass es wohl angezeigt erscheint, sie zur Prüfung der uns hier beschäftigenden Verhältnisse heranzuziehen.

Wenn wir der Frage näher treten, ob und unter welchen Bedingungen eine typhöse Erkrankung der Mutter den Organismus des Fötus, bezw. des Neugeborenen zu beeinflussen und letzterem gewisse Schutzstoffe zu übermitteln vermag, so können, wie ohne Weiteres einleuchtet, für das Auftreten löslicher Substanzen, also auch der Agglutinine im fötalen Blute folgende Gründe vorliegen. Erstens nämlich ist es möglich, dass eine eigene Production dieser Stoffe im Fötus selbst erfolgt. Die Veranlassung hierzu kann sowohl in einer secundären Infection des fötalen Organismus mit den lebenden Krankheitserregern liegen, die von der Mutter auf den letzteren übergehen, als auch in einer Intoxication mit specifischen Giftstoffen, welche unter dem Einfluss der Erkrankung im mütterlichen Organismus gebildet wurden. Zweitens aber kann die Quelle der Agglutinationskraft des kindlichen Serums in dem Uebergang fertiger Stoffe, d. h. der Agglutinine selbst zu suchen sein und dieser wird sowohl auf dem Wege der Blutbahn durch die Placenta während des intrauterinen Lebens als auch durch Ernährung mit der Muttermilch in der Zeit nach der Geburt erfolgen dürfen.

Während die bisher vorliegenden wenig zahlreichen Beobachtungen am Menschen zu einem zuverlässigen Urtheil über die angedeuteten Verhältnisse nur ungenügende Anhaltspunkte bieten, hat man auf dem Wege des Thierexperimentes bessere Erfolge verzeichnen können und nicht unwesentlich zur Klärung der Frage beigetragen. Daher sei hierauf zunächst eingegangen.

Ziehen wir an erster Stelle den mittels der Blutbahn erfolgenden Uebergang agglutinirender Stoffe in den Kreis unserer Betrachtungen, so können wir nicht umhin, der klassischen Untersuchungen Ehrlich's[1] über die Erwerbung der Immunität durch Vererbung und Säugung Erwähnung zu thun, in welchen beide Möglichkeiten geprüft wurden, der Uebertritt der fraglichen Schutzstoffe sowohl auf dem Wege der Blutbahn wie mit der Muttermilch. Zwar handelte es sich bei diesen nicht um die Uebertragung der uns gerade in besonderem Maasse interessirenden Agglutinine, sondern der sogenannten „Antikörper", d. h. hier der Antitoxine im eigentlichen Sinne des Wortes. Die dort gewonnenen Ergebnisse fordern aber so sehr zu einem Vergleich mit den unsrigen auf, dass es wohl angezeigt erscheint, über dieselben in Kürze zu berichten.

Nachdem der Nachweis erbracht war, dass ebensowenig wie dem Sperma der Eizelle die Fähigkeit zukomme, die Immunität auf die Nachkommen zu übertragen, suchte Ehrlich[2] die Frage nach der directen intrauterinen Beeinflussung der fötalen Gewebe durch das immunisirende Agens zu lösen. Es gelang ihm auch wirklich bei Mäusen, welche er gegen Tetanustoxin, und gegen andere Gifte, wenn auch nicht gerade bakterieller, so doch auch pflanzlicher Natur, wie Ricin und Abrin immunisirt hatte, die im mütterlichen Blute entstandenen Gegenstoffe ebenfalls im Serum der Föten nachzuweisen. Doch war die so erzeugte wenig hochgradige Immunität nur von kurzem Bestande und meist schon nach 3 bis 4 Wochen erloschen.

Die ersten Erfahrungen über den Durchtritt der Agglutinine durch die Placenta von Thieren verdanken wir einigen französischen Autoren.

So fanden Lannelongue und Achard[3] im Blute der Jungen von solchen Versuchsthieren, welche sie gegen Bacillus proteus immunisirt hatten, eine specifische agglutinirende Kraft.

Widal und Sicard[4] impften Meerschweinchen wiederholt mit Typhusculturen und ermittelten im Blutserum der von diesen Thieren geworfenen Jungen unmittelbar nach der Geburt Typhusagglutinine.

Achard und Bensaude hatten Meerschweinchen gegen Cholera immunisirt und sahen im Serum der Neugeborenen dieser Thiere agglutinirende Eigenschaften auftreten.

[1] Ehrlich, Ueber Immunität durch Vererbung und Säugung. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXII. S. 183.

[2] Ehrlich und Hübener, Ueber die Vererbung der Immunität bei Tetanus. *Ebenda.* Bd. XVIII.

[3] Achard, Sur le passage de la propriété agglutinante à travers la placenta. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie.* 1897. p. 255.

[4] Widal et Sicard, Transmission de la substance agglutinante typhique par l'allaitement. *La semaine médicale.* 1897. p. 282.



Remlinger[1] machte neuerdings darauf aufmerksam, dass der Zeitpunkt der Immunisirung von wesentlicher Bedeutung sei, insofern als bei Meerschweinchen im Blute der Neugeborenen eine nennenswerthe und beständige Agglutinationskraft nur dann nachgewiesen werden konnte, wenn die Impfung der Mutterthiere erst im Verlaufe der Gravidität, nicht aber vorher erfolgt war. Freilich hielt sich auch hier die Wirkung in sehr viel bescheideneren Grenzen als bei der Mutter, so dass z. B. das kindliche Blut nur etwa den zehnten Theil der mütterlichen Agglutinationskraft entfaltete und diese Fähigkeit regelmässig bereits innerhalb weniger Monate einzubüssen pflegte. Ferner war immer nur der erste der Impfung folgende Wurf in dieser Weise ausgezeichnet, während die späteren die fragliche Eigenschaft vollständig vermissen liessen.

Hatten die ebengenannten Beobachtungen den Uebergang von Agglutininen auf dem Wege der Blutbahn unzweifelhaft bewiesen, so belehrte mich eine eigene Wahrnehmung, dass es von dieser Möglichkeit doch auch Ausnahmen geben kann.

Eine Ziege war nämlich durch steigende Dosen von Typhuscultur hochgradig immunisirt worden. Acht Tage nach der letzten Impfung warf dieselbe ein Lämmchen, das, ohne Milch von dem Mutterthier getrunken zu haben, schon nach wenigen Stunden starb. Während das Serum dieses letzteren auch bei stundenlanger Berührung mit Typhusbacillen keine Spur von häufchenbildender Kraft erkennen liess, besassen Blut und Milch der Mutterziege diese Eigenschaft in hohem Maasse, da sie innerhalb von 10 Minuten Typhusbacillen bei einer Verdünnung von 1:200 vollständig agglutinirten.

Eine Reihe weiterer Untersuchungen, die wir in der Litteratur finden, gelten der Entscheidung der Frage, ob die in der Milch der Mutterthiere vorhandenen Agglutinine vom Magendarmcanal der säugenden Jungen aus resorbirt werden und dem Serum derselben die specifischen Eigenschaften verleihen können.

Wie bereits oben, so möchte ich auch hier auf die grundlegenden Experimente Ehrlich's hinweisen und insbesondere an den Verlauf des bekannten Vertauschungs- oder Ammenversuches erinnern, dessen Ausfall er selbst folgendermaassen beschreibt: „Trägt man dafür Sorge, was sich bei einem Zuchtbetriebe leicht ermöglichen lässt, dass eine hochimmune und eine Controlmaus ungefähr zu gleicher Zeit befruchtet werden,

---

[1] Remlinger, Contribution expérimentale à l'étude de la transmission héréditaire de l'immunité contre le bacille d'Éberth et du pouvoir agglutinant. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899. p. 129.



so hat man nach erfolgtem Wurf nur die Mutter zu vertauschen, d. h. den normalen Jungen die immune Amme zuzusetzen und vice versa." Das Junge eines gegen Abrin hochimmunen Mutterthieres büsste seine ursprüngliche Immunität bei der Säugung durch eine nicht immune Amme bis auf einen so bescheidenen Rest ein, dass letzterer kaum noch den zehnten Theil des von einem normalen Jungen durch Säugung an einer immunisirten Amme gewonnenen betrug. Diese zunächst für die Tetanus-, Ricin- und Abrinimmunität ermittelten bedeutsamen Ergebnisse sollten durch weitere Versuche von Ehrlich und Wassermann[1] eine bemerkenswerthe Ergänzung und Bestätigung erfahren, indem es gelang, auch bei Diphtherie-immunisirten Thieren den Uebergang des specifischen Antitoxins aus dem Blutserum in die Milch nachzuweisen. In ähnlichem Sinne berichten Salomonsen und Madsen[2] über den Antitoxingehalt der Milch einer mit steigenden Dosen von Diphtherietoxin behandelten Stute.

Die Uebertragung agglutinirender Stoffe auf die säugenden Jungen mittels der Muttermich haben Widal und Sicard[3] bei Mäusen beobachtet, indem sie im Serum junger Mäuse, welche längere Zeit hindurch mit der Milch gegen Typhus immunisirter Thiere gefüttert waren, die fraglichen Eigenschaften nachwiesen. Ein entgegengesetztes Resultat ergaben dagegen ähnliche an Meerschweinchen und Kaninchen angestellte Experimente.[4]

Wie die obengenannten Autoren, so vermisste auch Castaigne[5] im Serum von Kaninchen, denen stark agglutinirende Milch verabreicht war, unter normalen Verhältnissen jede Agglutinationswirkung. Nur bei absichtlicher, zur Geschwürsbildung führender Verletzung der Darmschleimhaut wurden die agglutinirenden Stoffe vom Darm aufgenommen und dann alsbald im Blute nachgewiesen.

Auch die Versuche, welche Remlinger[6] an Meerschweinchen und

[1] Ehrlich u. Wassermann, Ueber die Gewinnung der Diphtherieantitoxine aus Blutserum und Milch immunisirter Thiere. *Diese Zeitschrift.* Bd. XVIII. S. 231.

[2] Salomonsen u. Madsen, Recherches sur la marche de l'immunité active contre la diphthérie. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1896. T. XI. p. 315.

[3] Widal et Sicard, Transmission de la substance agglutinante typhique par l'allaitement. *Semaine médicale.* 1897. p. 281.

[4] Dieselben, Recherches sur l'absorption de la substance agglutinante typhique par le tube digestif et sur la transmission par l'allaitement. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie.* 1897. p. 807.

[5] Castaigne, Transmission par l'allaitement du pouvoir agglutinante typhique de la mère à l'enfant. *La semaine médicale.* 1897. p. 429.

[6] Remlinger, Contribution expérimentale à l'étude de la transmission héréditaire de l'immunité contre le bacille d'Éberth et du pouvoir agglutinant. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. p. 129.



Kaninchen anstellte, bestätigen die Thatsache, dass die Milch dieser Thierarten zur Uebertragung agglutinirender Eigenschaften nicht geeignet und fähig ist.

Ueberblicken wir die bisher erwähnten Thierversuche, so dürfte der Ausfall derselben zur Genüge lehren, dass der fötale Organismus einmal auf dem Wege des Blutstroms, d. h. des placentaren Uebergangs von Schutzstoffen und agglutinirenden Substanzen immunisirende und agglutinirende Eigenschaften erlangen kann, aber nicht zu erlangen braucht, und dass ferner auch für die Uebertragung durch die Milch die Dinge ähnlich liegen. Bei dieser letzteren macht sich nur in besonderem Maasse das unterschiedliche Verhalten der einzelnen Thierarten bemerklich. So hat sich die Muttermilch der Mäuse zur Verpflanzung der besprochenen Fähigkeiten auf die säugenden Jungen als geeignet erwiesen, diejenige der Meerschweinchen und Kaninchen dagegen nicht.

Wenn wir uns nunmehr den am Menschen gesammelten Erfahrungen zuwenden wollen, so werden wir zweckmässigerweise das vorhandene Material nach den Gesichtspunkten ordnen, die auch der Eintheilung der Thierversuche zu Grunde lagen. In Rücksicht auf die einheitliche Wiedergabe einzelner Fälle wird es sich indessen empfehlen, von einer vollkommen scharfen Scheidung je nach der Uebertragung agglutinirender Eigenschaften auf dem Wege durch die Placenta oder mit der Muttermilch gelegentlich Abstand zu nehmen.

Im Serum dreier Wöchnerinnen fanden Kasel und Mann[1] eine innerhalb 1 bis 2 Stunden bei fünfzigfacher Verdünnung wirksame Agglutinationskraft, während dem Blute der zugehörigen Neugeborenen diese Eigenschaft entweder völlig oder bis auf verschwindende Spuren mangelte. Die Erkrankung an Typhus lag in einem Falle um 1 Jahr, bei den beiden anderen Frauen um längere Jahre zurück. Die Muttermilch der betr. Wöchnerinnen agglutinirte die Typhuserreger bei Verdünnungen von 1:12 bezw. 1:50, doch war im Blute der von den Müttern gestillten Säuglinge keine Spur der gleichen Fähigkeit nachzuweisen.

Etienne[2] stellte im Bute eines $4^1/_2$ monatlichen Fötus von einer an Typhus verstorbenen Schwangeren das völlige Fehlen agglutinirender Stoffe fest.

---

[1] Kasel u. Mann, Beiträge zur Lehre von der Gruber-Widal'schen Serumdiagnose des Unterleibstyphus. *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. S. 584.

[2] Etienne, *Presse médicale.* 1896. p. 465.



Auch Charrier und Apert[1] vermissten in den gesammten Körpersäften eines am 20. Tage der typhösen Erkrankung der Mutter ausgestossenen dreimonatlichen Fötus jede Spur von haufenbildender Kraft, und über eine ganz ähnliche Wahrnehmung referirt Dagliotti.[2]

In diesen Fällen war also das Serum der Kinder durchaus frei von Agglutininen, während diese im Blute der Mütter ohne Ausnahme in deutlichen Mengen angetroffen wurden. Dass aber dieses Verhalten keineswegs der Regel entspricht, entnehmen wir aus folgenden Beispielen:

Chambrelent und R. Saint-Philippe[3] sahen im Verlauf eines Typhus Frühgeburt eintreten und constatirten unmittelbar nach der Geburt im mütterlichen wie im kindlichen Serum agglutinirende Stoffe.

Weiterhin behandelten Mossé und Dennie[4] eine typhuskranke Gravida, deren Blut und Colostrum Typhusbacillen stark zusammenballte. Das Serum des Kindes, welches 7 Wochen nach dem Ablauf der Affection und am Ende des 7. Schwangerschaftsmonats geboren wurde, reagirte, wenn auch langsamer, als das der Mutter, so doch in deutlich ausgesprochener Weise.

Auch Scholtz[5] hat einen hierhergehörigen Fall in dem hiesigen hygienischen Institut untersucht. Das Blutserum einer an Typhus erkrankten Frau wirkte auf Typhusbacillen noch bei einer Verdünnung von 1:175 bezw. 1:190 deutlich agglutinirend. In der 3. Krankheitswoche erfolgte Frühgeburt im 7. Monat, doch bereits am 2. Tage danach starb das Neugeborene, dessen bei der Section entnommenes Blut eine Agglutinationskraft von 1:250 zeigte. Da eine weitere bakteriologische Prüfung des kindlichen Blutes unterblieb, dürfte es fraglich erscheinen, ob dieser hohe Werth auf den Uebergang der mütterlichen Stoffe allein und nicht vielleicht auch auf eine intrauterine Secundärinfection des Fötus mit Typhus zurückzuführen war.

An diese Beobachtungen kann ich einen Fall anreihen, den ich selbst zu verfolgen Gelegenheit hatte.

---

[1] Charrier et Apert, *Comptes rendus de la société de Biologie.* 1896. p. 1103.

[2] Dagliotti, *Giornale d'Academia di Med. di Torino.* Juni 1897.

[3] Chambrelent et R. Saint-Philippe, *Société d'obstétrique et de gynécologie de Bordeaux.* Nov. 1896.

[4] Mossé et Dennie, Séroréaction chez l'enfant d'une femme atteinte de fièvre typhoide pendant la gestation. *Comptes rendus de la Société de Biologie.* 1897. T. IV. Nr. 8.

[5] Scholtz, Beiträge zur Serodiagnostik des Abdominaltyphus. *Hygienische Rundschau.* 1898. Nr. 9. S. 423.



Nach dem Wortlaut der Krankengeschichte, welche ich der hiesigen königl. medicinischen Universitätsklinik verdanke, fand am 24. IX. 1898 die 35 Jahre alte Arbeiterfrau E. G. Aufnahme. Die Patientin kam aus einer mit Typhus verseuchten Gegend und war unter schweren Allgemeinerscheinungen 8 Tage zuvor erkrankt. Bei der ersten Untersuchung wurde Schwangerschaft im 8. bis 9. Monat festgestellt. Die Diagnose wurde auf Typhus abdominalis gestellt, und der Verlauf der Affection gestaltete sich verhältnissmässig leicht.

Wegen des bevorstehenden Partus wurde die Frau am 13. X. 1898 in die Frauenklinik verlegt und gebar am selbigen Tage ein lebendes Mädchen, das nach Grösse und Gewicht der 36. Woche zuzurechnen war. Die Placenta war ohne Besonderheiten. Das Wochenbett, das achte für die Frau, verlief völlig normal.

Zur Anstellung der Widal'schen Reaction hatte man bald nach der Geburt einige Cubikcentimeter mütterlichen Blutes durch Einstich in die Fingerkuppe gewonnen, und zu gleichem Zwecke eine kleine Menge Colostrum aus der mütterlichen Brust entnommen.

Ueber das bei der Vornahme der Widal'schen Prüfung angewendete Verfahren wäre folgendes zu bemerken: Als Typhuscultur benutzte ich einen aus der Milz eines an Typhus verstorbenen Menschen gezüchteten Stamm. Ich wählte wie gewöhnlich sechsstündige bei 37° C. gewachsene Bouillonculturen, welche nach dieser Zeit makroskopisch leicht getrübt erschienen und bei mikroskopischer Betrachtung lebhaft bewegliche und gut isolirte Stäbchen erkennen liessen.

Diese Typhusbouilloncultur wurde dann mit sterilen Pipetten in Mengen von je 1 ccm in kleine, dünne, im Ganzen 5 ccm fassende sterile Reagensgläschen gefüllt, die sich hierbei als besonders handlich erwiesen. Zum Abmessen des Blutserums dienten mir die auch sonst bei der Widal'schen Reaction bewährten Pipetten von 25 cm Länge mit capillarem Lumen und Eintheilung in $^1/_{100}$ ccm. Es wurde so möglich, die nöthigen Abmessungen ohne Schwierigkeit und mit grösster Genauigkeit auszuführen. Den Bouillonculturen wurde nun Serum im Verhältniss von 1:1, 1:5, 1:10, 1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 und 1:600 hinzugefügt und nach erfolgter Durchmischung die Wirkung im hängenden Tropfen beobachtet. Wir wählten diese Art der Prüfung, da wir sie nach unseren Erfahrungen für wesentlich zuverlässiger und empfindlicher als die makroskopische Betrachtung erachten mussten. Doch sei erwähnt, dass die letztere nebenher auch ausgeführt wurde und dass die Ergebnisse derselben im Grossen und Ganzen meist mit denen der ersteren übereinstimmten.



Der Ausfall der mit dem mütterlichen Serum und dem Colostrum der Mutter vorgenommenen Untersuchung lehrte, dass beide, wie die umstehende Tabelle anzeigt, eine nahezu gleiche und ganz beträchtliche häufchenbildende Kraft besassen.

Das Resultat musste als stark positiver Ausfall der Widal'schen Probe und somit als Bestätigung der früher gestellten klinischen Diagnose bezeichnet werden.

Ferner war aus der placentaren und aus der fötalen Seite der durchschnittenen Nabelschnur Blut entnommen. Das Serum beider Blutproben enthielt die gleiche Menge von Typhusagglutinin, doch entsprach diese nur etwa dem zehnten Theil des im Blut und im Colostrum festgestellten Werthes.

Am 11. Tage des Wochenbetts wurden wiederum mütterliches Blut, Milch und kindliches Blut auf ihre agglutinirenden Eigenschaften hin untersucht, wobei sich für die beiden ersteren keine Veränderung, für das letztere jedoch eine merkliche Abschwächung um 25 Procent ergab, d. h. ein Sinken des Agglutinationswerthes von 1:40 auf 1:30.

Da von unserer Seite dem Falle ein gewisses Interesse beigemessen wurde, veranlassten wir die Frau, sich später mit ihrem Kinde zwecks erneuter Blutentnahme noch einmal vorzustellen. Eine solche konnte denn auch am 83. Tage post partum stattfinden und die Untersuchung lehrte, dass einerseits bei der Mutter eine nachträgliche Steigerung erfolgt war und dass das Serum in noch grösseren Verdünnungen als früher seine specifische Wirkung entfaltete. Es ist dies ein Verhalten, auf das schon wiederholt von verschiedener Seite hingewiesen worden ist, und das auch wir schon mehrfach zu constatiren Gelegenheit hatten.

Auf der anderen Seite mussten uns aber mehrfache Prüfungen des Säuglingsblutes von dem völligen Schwund der demselben früher innewohnenden agglutinirenden Fähigkeit überzeugen.

Das Kind war ausschliesslich, wie hervorgehoben werden soll, mit Brustnahrung ernährt worden und gut gediehen. Es wurde deshalb auch eine Probe der in reichlicher Menge abgesonderten Muttermilch untersucht, und agglutinirte dieselbe noch am 112. Tage post partum kräftig, wenn auch zu diesem Zeitpunkt eine gewisse Abnahme unverkennbar war. Die specifische Wirkung wurde bis zur Verdünnung von 1:300 bemerkt, darüber hinaus aber kein Einfluss mehr gesehen. Die zu der Prüfung verwandte Milch war ebenso, wie das oben erwähnte Colostrum und die Muttermilch bei den ersten beiden Untersuchungen, zuvor 20 Minuten lang centrifugirt worden.

Im vorliegenden Falle sehen wir also erstens das mütterliche Blut noch 3 bis 4 Monate nach Ablauf einer typhösen Erkrankung die Typhus-

Tabe[...]

Nr. 282. 1898/1899.

I. Untersuchung am 14. X. 1898.

Nr.	Material	Verdünnung des Serums	Blutentnahme unmittelbar nach der Geburt. Nr. 282	Verdünnu[...] des Serums
1.	Blut von der Mutter, aus der Fingerkuppe entnommen	ana	völlige A. und P. sofort.	ana
		1:5	" " " " "	1:8
		1:10	" " " " nach 2 Minuten.	1:10
		1:25	" " " " " 5 "	1:25
		1:50	" " " " " 5 "	1:50
		1:100	" " " " " 10 "	1:100
		1:200	" " " " " 12 "	1:200
		1:400	" " " " " 50 "	1:400
		1:600	nach $1^1/_2$ Stunden unbeeinflusst.	1:600

Nr.	Material	Verdünnung des Colostrums	Entnahme am Tage nach der Geburt. Nr. 288	Verdünnu[...] der Milch
2.	Colostrum bezw. Milch von der Mutter	ana	völlige A. und P. sofort.	ana
		1:5	" " " " "	1:5
		1:10	" " " " nach 3 Minuten.	1:10
		1:25	" " " " " 5 "	1:25
		1:50	" " " " " 6 "	1:50
		1:100	" " " " " 10 "	1:100
		1:200	" " " " " 12 "	1:200
		1:400	" " " " " 50 "	1:400
		1:600	nach $1^1/_2$ Stunden ohne Einfluss.	1:600

Nr.	Material	Verdünnung des Serums	Entnahme unmittelbar nach der Geburt. Nr. 283 und 284	Verdünnu[...] des Serums
3.	Kindliches Blut	ana	schwache und unvollkommene A. und P. erst nach 5 Min. auftretend, nach 30 Min. keine Zunahme mehr zeigend.	ana
		1:5	nach 8 Min. } Beginn des Auftretens der A.	1:5
		1:10	" 15 " } Beginn des Auftretens der A.	1:10
		1:25	" 20 " } Beginn des Auftretens der A.	1:25
			Bei allen Verdünnungen P. nur schwach angedeutet.	1:30
		1:40	nach 30 Min. geringe A.	1:40
		1:50	nach $1^1/_2$ Stunden ohne Einfluss.	1:50

A. = Agglutination. P. = Paralyse.

. 298. 1898/1899. | Nr. 140. 1899/1900.

rsuchung am 25. X. 1898. | III. Untersuchung am 5. I. 1899.

ıtentnahme am 11. Tage des Wochenbettes. Nr. 298	Verdünnung des Serums	Blutentnahme am 83. Tage post partum. Nr. 140
;e A. und P. sofort.	ana	völlige A. und P. sofort.
„ „ „ nach 1 Minute.	1:5	„ „ „ „ „
„ „ „ „ 2 „	1:10	„ „ „ „ nach 1 Minute.
„ „ „ „ 4 „	1:25	„ „ „ „ „ 3 „
„ „ „ „ 5 „	1:50	„ „ „ „ „ 5 „
„ „ „ „ 10 „	1:100	„ „ „ „ „ 5 „
„ „ „ „ 12 „	1:200	„ „ „ „ „ 10 „
„ „ „ „ 50 „	1:400	„ „ „ „ „ 50 „
Einfluss nach $1^1/_2$ Stunden.	1:600	grosse lockere bewegliche Haufen nach 50 Min., keine P.
	1:100	nach $1^1/_2$ Stunden ohne Einfluss.

ıahme am 11. Tage des Wochenbettes. Nr. 299.	Verdünnung der Milch	Entnahme der Milch am 112. Tage (3. II. 1899) post partum. Nr. 196.
ge A. und P. sofort.	ana	völlige A. und P. sofort.
„ „ „ „	1:5	„ „ „ „ nach 5 Minuten.
„ „ „ nach 4 Minuten.	1:10	„ „ „ „ „ 10 „
„ „ „ „ 5 „	1:25	„ „ „ „ „ 12 „
„ „ „ „ 5 „	1:50	„ „ „ „ „ 15 „
„ „ „ „ 10 „	1:100	völlige A., keine vollständ. P. nach 30 Min.
„ „ „ „ 10 „	1:300	schwache A., keine P. nach 1 Std.
„ „ „ „ 50 „	1:600	ohne Einfluss nach $1^1/_2$ Std.
ı $1^1/_2$ Stunden unbeeinflusst.		

ntnahme am 11. Tage nach der Geburt. Nr. 299	Verdünnung des Serums	Entnahme am 83. Tage post partum. Nr. 141
'ollkommene und langsam nach Min. eintretende A. und P., die ıach 30 Min. nicht mehr zunimmt.	ana	nach 30 Minuten ohne Einfluss.
:h 10 Min.	1:10	nach $1^1/_2$ Stunden ohne jeden Einfluss. (1:10 – 1:50)
15 „ — Beginn der ersten Erscheinungen von A. — keine P. (15 – 30 Min.)	1:25	
25 „	1:50	
30 „		
ıe jeden Einfluss nach $1^1/_2$ Std.		
' „ „ „ „ „		

erreger in erheblichem Maasse agglutiniren und bemerken sogar eine gewisse Steigerung dieser Fähigkeit. Gerade umgekehrt verhält es sich mit den im kindlichen Serum vorhandenen Agglutininen, welche demselben unmittelbar nach der Geburt etwa den zehnten Theil der dem Serum der Mutter eigenen Kraft verliehen.

Der Agglutinationswerth der Muttermilch stimmte im Anfang mit dem des mütterlichen Blutserums genau überein, erfuhr jedoch nach geraumer Zeit eine unverkennbare Abschwächung (siehe Tabelle I).

Eine Miterkrankung des Fötus ist in unserem Falle sehr wenig wahrscheinlich, ja man darf eine solche nach der ganzen Lage der Dinge wohl für ausgeschlossen erachten. Der Befund von agglutinirenden Stoffen im kindlichen Blut ist hier deshalb gewiss lediglich und allein darauf zurückzuführen, dass diese im Serum der Mutter enthaltenen Substanzen durch die Placenta hindurch in den fötalen Kreislauf gelangt sind. Dafür spricht namentlich auch der von Anfang an nur geringfügige Grad, sowie das rasche Schwinden der Agglutinationskraft des Säuglingsblutes.

Die wiederholten vergleichenden Prüfungen ergaben, dass trotz der Ernährung mit einer Muttermilch, die noch 112 Tage post partum im Verhältniss von 1:100 vollständige Häufchenbildung hervorbrachte, das kindliche Serum bereits am 11. Lebenstage eine merkliche Abnahme und nach 83 Tagen völligen Verlust seiner agglutinirenden Eigenschaft zeigte.

Dieser letztere Umstand lässt aber auch fernerhin nicht den geringsten Zweifel darüber, dass eine weitere Zufuhr agglutinirender Stoffe während des extrauterinen Lebens nicht mehr erfolgte. Die hier mitgetheilte Beobachtung dürfte daher ein besonderes Interesse beanspruchen, insofern als ein derartiger Befund am Menschen damit zum ersten Male in einwandfreier Weise erhoben werden konnte. Die oben bereits erwähnten Mittheilungen von Kasel und Mann besitzen nicht genügende Beweiskraft. Denn ein Mal lag die Erkrankung der Mutter längere Zeit oder gar eine ganze Reihe von Jahren zurück und dann war die Agglutinationskraft der Milch wie des Serums nur eine geringe.

Die sonst bekannten Beobachtungen kommen für die uns hier interessirende Frage nach dem Uebergang agglutinirender Stoffe mit der Muttermilch nicht in Betracht, da es sich meist um abgestorbene Föten handelte, oder im Falle dass Frühgeburt vorlag, der Tod des Kindes sehr rasch nach der Geburt eintrat. (Etienne, Charrin und Apert, Dagliotti, Chambrelent und Saint-Philippe, Scholtz.) Nur einige wenige Mittheilungen wären hier noch zu berücksichigen, die zwar nicht völlig mit den bisherigen Fällen vergleichbar sind, weil die Typhuserkran-



kung der Mutter erst in die Zeit der Lactationsperiode fiel. Immerhin sind sie für die Frage, ob Milch Agglutinine zu übermitteln vermag, bedeutsam, wenn auch leider ihre Ergebnisse widersprechender Art sind.

Achard[1] fand mit Bensaude zusammen im Blut und in der Milch einer typhuskranken Amme deutliches Agglutinationsvermögen, während das Blutserum des von derselben gestillten Säuglings jegliche Spur von Reaction vermissen liess.

Castaigne[2] berichtet über eine mehrere Wochen nach der Entbindung an Abdominaltyphus erkrankte Frau, deren Serum und Milch einen Agglutinationswerth von 1:1200 bezw. 1:600 besassen, während derselbe im Blutserum des Säuglings nur die geringe Höhe von 1:30 erreichte. Sobald man dem letzteren die Mutterbrust entzog, verlor er diese Eigenschaft sogar völlig, um sie aber sofort wiederzugewinnen, wenn man zu der ersten Ernährungsweise zurückkehrte. Eine Erklärung für dieses höchst auffällige und schwankende Verhalten glaubt Castaigne darin zu finden, dass der Säugling einige Zeit zuvor an einer Darmerkrankung gelitten und damit vermuthlich Läsionen der Darmschleimhaut erworben hatte, welche den mit der Muttermilch einverleibten Stoffen den Uebergang in den kindlichen Kreislauf wesentlich erleichtern mussten.

Auch in einem von Landouzy und Griffon[3] beobachteten Falle dürften ähnliche Verhältnisse vorgelegen haben. Es handelte sich um eine drei Monate nach der Niederkunft erkrankte Frau, deren Blut, ebenso wie das ihres Kindes positive Widal'sche Reaction darbot, ohne dass irgend etwas für eine typhöse Erkrankung des letzteren gesprochen hätte.

Im Laufe der Untersuchung des oben beschriebenen Falles war es mir wünschenswerth erschienen, festzustellen, ob auch die im Blute ganz gesunder Menschen bisweilen vorhandenen Agglutinine auf placentarem Wege auf den Fötus übertragen werden. Es war zu diesem Zwecke erforderlich, vergleichende Untersuchungen des Blutserums einer grösseren Anzahl Wöchnerinnen und ihrer Kinder anzustellen. Die Möglichkeit, das nöthige Material mir zu verschaffen, verdanke ich dem gütigen Entgegenkommen des Herrn Geheimrath Fehling und der freundlichen Unterstützung seines Assistenzarztes Herrn Dr. Scharfe.

---

[1] Achard, Action agglutinante du lait de femmes atteintes de fièvre typhoide sur le bacille d'Éberth. *La semaine médicale.* 1896. p. 303.

[2] Castaigne, a. a. O.

[3] Landouzy et Griffon, Transmission par l'allaitement du pouvoir agglutinant typhique de la mère à l'enfant. *Comptes rendus de la Société de Biologie.* 1897. p. 950.

Von 45 Wöchnerinnen der hiesigen Frauenklinik wurde unmittelbar oder einige Stunden nach der Niederkunft eine kleine Blutmenge (1·0 ccm) durch Einstich in die zuvor gründlich gereinigte Fingerkuppe entnommen. Eine gleiche oder auch meist grössere Quantität kindlichen Blutes liess sich aus der placentaren Seite der durchschnittenen Nabelschnur unschwer gewinnen. Das nach einigen Stunden abgeschiedene Serum war vollkommen klar und frei von rothen Blutkörperchen, seine Menge reichte zur Anstellung der Prüfung völlig aus. Diese wurde in der oben bereits geschilderten Weise ausgeführt, nur wurden keine stärkeren Verdünnungen als 1:50 angefertigt.

Nachdem die anfänglich geübte Beobachtungsdauer von 30 Minuten sich vielfach als unzureichend herausgestellt und keine sehr deutlichen Unterschiede ergeben hatte, wurde für alle späteren Untersuchungen diese Zeit auf 2 Stunden ausgedehnt, wobei die Ergebnisse einen zuverlässigeren und prägnanteren Charakter gewannen. Dass das Auftreten einer Agglutinationswirkung allein von dem Serumzusatz abhängig war und nicht auch ohne denselben schon von selbst aufgetreten wäre, davon überzeugten uns in jedem einzelnen Falle sorgsame Controluntersuchungen der unvermischten Bouillonculturen. Diese erwiesen sich nämlich während zweier Stunden und auch meist noch späterhin als vollkommen frei von jeglicher Haufenbildung oder sonstigen Erscheinungen, die auf irgend welche Schädigungen der Mikroorganismen hingedeutet hätten.

Unter diesen Bedingungen haben nun sämmtliche 45 Proben mütterlichen Blutes eine häufchenbildende Wirkung geäussert, die nur in 5 Fällen unter der Grenze 1:5 bezw. 1:10 blieb, in den übrigen 40 dagegen noch bei einer Verdünnung von 1:10 und darüber deutlich zu Tage trat. Bei 30 Serumproben bestand noch im Verhältniss von 1:25, bei 22 im Verhältniss von 1:50 und in einem Falle sogar bei 1:100 eine zwar schwache, aber zweifellose Beeinflussung.

Weder in dem letzteren Falle noch in den übrigen ergab anamnestische Nachforschung irgendwelche Anhaltspunkte für früher überstandenen Abdominaltyphus. Wenn wir trotzdem hier stets Agglutination beobachteten, so handelte es sich nicht um eine „specifische“, sondern um eine ganz im Rahmen des Normalen liegende Wirkung.

Falls die gefundenen Werthe vielleicht etwas hoch erscheinen sollten, so ist zu betonen, dass einmal die Beobachtungsdauer weit länger als gewöhnlich war, und dass in jedem einzelnen Falle das Phänomen sich langsam und allmählich entwickelte. Zweitens aber zeigten sich bei genauer Beobachtung besondere, noch näher zu besprechende Abweichungen von dem gewöhnlichen „specifischen“ Agglutinationsmodus,



Tabelle II.

Prüfung der Fähigkeit des Blutserums gesunder Wöchnerinnen und deren Neugeborener, Typhusbacillen zu agglutiniren.

Laufende Nr.	Nr. des Untersuchungsbuches	Mütterliches Serum					Kindliches Serum				
		Vermischung des Serums mit Typhusbouilloncultur im Verhältniss von:									
		ana	1:5	1:10	1:25	1:50	ana	1:5	1:10	1:25	1:50
1	14 15	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	16 17	+++	+		—	—	+	—	—	—	—
3	24 25	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	—	—
4	34 36	+++	+++	+++	++	+	++	+	+	—	—
5	36 37	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—
6	38 39	+++	+++	+++	+++	+	+	+	—	—	—
7	40 41	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	—	—
8	42 43	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	—	—
9	44 45	+++	++	++	++	+	—	—	—	—	—
10	49 50	+++	++	++	++	+	+	+	+	—	—
11	51 52	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	—	—
12	53 54	+++	++	++	+	—	+	+	—	—	—
13	60 61	++	+	+	+	+	+	+	+	—	—
14	62 63	+++	++	++	+	—	++	—	—	—	—
15	64 65	+++	+++	++	+	—	+	—	—	—	—
16	70 71	+++	++	++	+	—	+	—	—	—	—
17	72 73	+++	++	++	+	+	+	—	—	—	—
18	94 95	++	+	+	+	+	+	—	—	—	—

Erklärung der Zeichen: +++ völlige Agglutination; ++ nicht ganz vollständige Agglutination; + Spuren von Agglutination; — keine Agglutination.



Tabelle II. (Fortsetzung.)

Laufende Nr.	Nr. des Untersuchungsbuches	Mütterliches Serum					Kindliches Serum				
		Vermischung des Serums mit Typhusbouilloncultur im Verhältniss von:									
		ana	1 : 5	1 : 10	1 : 25	1 : 50	ana	1 : 5	1 : 10	1 : 25	1 : 50
19	96 97	++	–	–	–	–	–	–	–	–	–
20	109 110	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	–
21	112 113	+++	+++	+++	+++	++	–	–	–	–	–
22	115 116	++	++	+	+	–	+	–	–	–	–
23	119 120	+++	++	+	+	–	–	–	–	–	–
24	121 122	+++	++	++	–	–	+	+	+	–	–
25	127 128	+++	+++	++	+	–	–	–	–	–	–
26	130 131	+++	++	–	–	–	+	+	–	–	–
27	158 159	+++	+++	+++	++	++	–	–	–	–	–
28	160 161	+++	+++	++	++	+	–	–	–	–	–
29	162 163	+++	+++	++	+	–	–	–	–	–	–
30	166 167	+++	+++	+++	++	+	–	–	–	–	–
31	169 168	+++	+++	+++	+++	+	+	–	–	–	–
32	171 172	+++	++	+	–	–	+	–	–	–	–
33	173 174	+++	+++	+++	+	–	++	+	–	–	–
34	175 176	+++	++	++	+	–	+	–	–	–	–
35	177 178	+++	++	++	+	–	+	–	–	–	–
36	184 185	++	++	+	–	–	+	–	–	–	–
37	186 187	+++	++	+	–	–	+	–	–	–	–
38	188 189	+++	++	+	–	–	+	–	–	–	–

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Laufende Nr.	Nr. des Untersuchungsbuches	Mütterliches Serum					Kindliches Serum				
		Vermischung des Serums mit Typhusbouilloncultur im Verhältniss von:									
		ana	1:5	1:10	1:25	1:50	ana	1:5	1:10	1:25	1:50
39	190 191	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	+	+	+	—	—
40	216 217	+ + +	+ +	+	+	+	—	—	—	—	—
41	218 219	+ + +	+ + +	+ +	+	—	—	—	—	—	—
42	220 221	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	—
43	222 223	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	—
44	224 225	+ + +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	—	—
45	226 227	+ + +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	—	—

Tabelle III.

		Mütterliches Blutserum					Muttermilch der betr. Frauen				
1	24 55	+ + +	+ +	+ +	—	—	+	+	—	—	—
2	34 56	+ + +	+ +	+ +	+	—	+	—	—	—	—
3	40 67	+ + +	+ +	+	+	+	+ +	+	+	+	+
4	37 66	+ + +	+ +	+	—	—	+ +	+	+	+	—

Tabelle IV.

		Mütterliches Blut					Fruchtwasser der betr. Wöchnerinnen				
1	109 111	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	—	—	—	—	—
2	112 114	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	—	—	—	—	—
3	115 117	+ +	+ +	+	+	—	—	—	—	—	—
4	127 129	+ + +	+ + +	+ +	+	—	—	—	—	—	—

welche mehr die Art und Weise, sowie den eigenthümlichen Verlauf der Reaction betrafen. Während nämlich bei dem Typhusserum mit der agglutinirenden meist auch eine stark paralysirende Wirkung verbunden zu sein pflegte, zeigte das normale, sowohl mütterliche wie kindliche, Blutserum in dieser Hinsicht ein völlig abweichendes Verhalten. Die Bewegungshemmung und Lähmung fehlte hier zwar nicht vollständig, war jedoch unverhältnissmässig schwächer als im ersteren Falle und entbehrte scheinbar jeder geregelten Beziehung zu der eigentlichen agglutinirenden Eigenschaft.

Ferner fiel es auf, dass unter dem Einfluss des Typhusserums die Bakterien schnell eine körnige Trübung des ursprünglich hellen, homogenen, protoplasmatischen Inhalts erkennen liessen, ihre schlanke Form verloren, erheblich aufquollen und sich zu immer fester verklebenden und verschmelzenden Massen zusammenballten, derart, dass schon nach kurzer Zeit Form und Charakter der Bakterien kaum noch zu erkennen waren. Anders verhielt sich das normale Serum. Hier trübte sich zwar auch der vorher homogene, durchsichtige Bakterienleib, auch Formveränderungen in dem angedeuteten Sinne traten fast regelmässig in die Erscheinung, jedoch erreichten diese Vorgänge niemals eine irgendwie nennenswerthe Intensität. Namentlich liessen die Häufchen, welche an sich schon kleiner waren, als die unter dem Einfluss des specifischen Typhusserums entstehenden, die Gestalt des Einzelindividuums meist noch mit Deutlichkeit hervortreten und wiesen vor allen Dingen eine erheblich lockerere Fügung auf.

Im schärfsten Gegensatz zu diesem Verhalten des mütterlichen Blutes ergab sich für das Serum der Neugeborenen durchweg eine ausserordentlich geringe Agglutinationskraft, die, wo sie überhaupt noch deutlich vorhanden war, weit hinter der Wirkung des mütterlichen Serums zurückstand. Die Blutproben von 16 Kindern äusserten überhaupt nicht den geringsten Einfluss auf Typhusbouillon und in 18 Fällen vermochte nur das unverdünnte Serum eine ganz schwache Agglutination hervorzurufen. Je 5 Mal liess sich die Serumwirkung bis zur Verdünnung von 1:5 bezw. 1:10 verfolgen und erreichte nur in einem Ausnahmefalle die Grenze von 1:25 (siehe Tabelle II).

Im Anschluss an die vorstehend geschilderten Ermittelungen habe ich mich durch eine kleine Reihe von Untersuchungen über das Vorkommen von Agglutininen im Fruchtwasser gesunder Wöchnerinnen zu unterrichten gesucht, bin aber niemals in der Lage gewesen, auch nur eine angedeutete Wirkung wahrzunehmen, obwohl gerade das Serum der betreffenden Wöchnerinnen bei Verdünnung von 1:25 lebhafte und bei 1:50 eine noch immerhin erkennbare Agglutinationskraft entfaltete. (Siehe Tabelle IV).



Dagegen habe ich in der Muttermilch einiger gesunder Frauen ohne Ausnahme mehr oder weniger deutliche Spuren der auch dem Blutserum eigenthümlichen agglutinirenden Wirkung, wie aus den in Tabelle III aufgeführten Resultaten hervorgeht, festgestellt. Ich möchte hier nicht unerwähnt lassen, dass bereits Kasel und Mann über das Vorkommen geringer Spuren von Agglutinin in der Milch einiger gesunder Frauen berichteten, während Achard[1] mit der Milch von sechs gesunden bezw. nicht an Typhus erkrankten Wöchnerinnen keine erhebliche Reaction erhielt und die Bildung kleinster Bouillonhaufen lediglich dem Einfluss der Milchkügelchen und der Epithelien zur Last legte.

Die in der Litteratur vorhandenen Mittheilungen, sowie unsere eigenen Beobachtungen dürften somit wohl zu folgenden Schlussfolgerungen berechtigen:

Wenn im Verlaufe eines Abdominaltyphus das mütterliche Blut agglutinirende Kraft erworben hat, so wird diese in einigen Fällen auf dem Blutwege auch dem Fötus mitgetheilt, während sie in anderen ausschliesslich auf den mütterlichen Organismus beschränkt bleibt.

Namentlich pflegt das letztere sich dann zu ereignen, wenn die Erkrankung schon eine gewisse Zeit vor dem Eintritt der Gravidität beendigt war und das Blut nur noch eine mässig hohe Agglutinationskraft als Nachklang der einstigen Affection zu äussern vermag (Kasel und Mann.)

Völlig wirkungslos scheint das kindliche Blutserum ferner aber auch dann zu sein, wenn die Erkrankung der Mutter in die erste Hälfte der Schwangerschaft fällt, offenbar wohl deshalb, weil es unter diesen Umständen meist sehr frühzeitig zur Fehlgeburt kommt (Etienne, Charrier und Apert, Dagliotti).

Dagegen lässt das Blut des Neugeborenen agglutinirende Fähigkeit nie vermissen, wenn die Mütter erst in den letzten Schwangerschaftsmonaten den Abdominaltyphus überstanden haben (Chambrelent und R. Saint-Philippe, Mossé und Dennie, Scholtz, unser Fall).

Die so erlangte Agglutinationskraft des Blutes der Neugeborenen ist allgemein nur von kurzem Bestande, da die auf dem angedeuteten Wege in den kindlichen Kreislauf eingedrungenen specifischen Stoffe nach kurzer Frist wieder vollständig ausgeschieden zu werden pflegen.

[1] Achard, a. a. O.



Die agglutinirende Wirkung, welche die **Muttermilch** zu äussern vermag, und zwar meist in dem nämlichen Grade wie das mütterliche Blutserum, ist für den **Säugling ohne Bedeutung und ruft in dessen Blut in der Regel keinerlei specifische Veränderungen hervor.**

Nur in Fällen, in denen vielleicht die Darmschleimhaut in Folge vorangegangener katarrhalischer Erkrankung nicht ihre normale Beschaffenheit aufweist, kann, wie es scheint, der Säugling die ihm mit der Muttermilch zugeführten Agglutinine aufnehmen und verwerthen.

Das Blutserum gesunder Wöchnerinnen besitzt eine in den Grenzen des Normalen sich haltende Agglutinationskraft, während das Serum der Neugeborenen diese Eigenschaft in verschwindend kleinem Maasse zeigt oder in selteneren Fällen auch gänzlich entbehrt.

Die vorstehenden Ausführungen will ich nicht schliessen, ohne zuvor meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. C. **Fraenkel**, meinen ergebensten Dank für die mir in reichem Maasse erwiesene Unterstützung und Förderung dargebracht zu haben.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Zürich.]

Ueber Aktinomykose.

Von

Privatdocenten Dr. **W. Silberschmidt,**
Assistenten am Institute.

(Hierzu Taf. III u. IV.)

Es wird wohl ein Jeder, welcher Gelegenheit hatte, sich mit Untersuchungen über Aktinomykose zu befassen, zugeben, dass dieses Capitel heutzutage noch lange nicht aufgeklärt ist. Nach den grundlegenden Arbeiten von O. Israël[1], Bollinger[2] und Harz[3], Ponfick[4], Bostroem[5], Wolff und Israël[6] u. A. haben die meisten Kliniker angenommen, dass die ätiologische Bedeutung des namentlich von Bostroem so eingehend beschriebenen Mikroorganismus definitiv festgestellt sei. Namentlich der Ausspruch eines so gründlichen und sorgfältigen Forschers wie Bostroem[7], dass er die „bakteriologische Seite der Frage als erledigt betrachten konnte und die vollständige Uebereinstimmung des beim Menschen und dem Thiere gefundenen Pilzes bereits constatirt hatte", liess den Schluss zu, dass, ähnlich wie dies von Koch für den Tuberkelbacillus nachgewiesen wurde, ein einziger bestimmter Mikroorganismus als die Krankheitsursache für die als Aktinomykose bezeichneten Erkrankungen angesprochen werden müsse. Die Unterschiede in den Culturen von

[1] Virchow's *Archiv.* Bd. LXXIV, S. 15 und Bd. LXXVIII, S. 421.
[2] *Deutsche Zeitschrift für Thiermedicin.* 1877. Bd. III.
[3] *Jahresbericht der Königl. Central-Thierarzneischule in München.* 1877/78.
[4] Virchow's *Archiv.* Bd. LXXIV, LXXXVII u. LXXXVIII.
[5] Ziegler's *Beiträge zur pathol. Anatomie.* Bd. IX. S. 1.
[6] Virchow's *Archiv.* Bd. CXXVI. S. 11.
[7] A. a. O. S. 187.



Bostroem namentlich gegenüber denjenigen von Wolff und Israël wurden dem grossen Pleomorphismus des betreffenden zu den Strahlenpilzen gerechneten Krankheitserregers zugeschrieben. Auffällig ist namentlich, dass, obschon sich die casuistischen Beiträge aus den verschiedensten Gegenden und Ländern ansammelten, die Mittheilungen über genaue bakteriologische Untersuchungen relativ spärlich waren. Diese Zurückhaltung in den bakteriologischen Untersuchungen rührt vielleicht von Bostroem selbst her, welcher[1] in jedem Falle mindestens 50 Gläser, manchmal auch noch mehr beschickte und in einem Falle sogar, obschon 85 Gläser geimpft worden waren, keine einzige Aktinomykosecolonie erhielt.

Dass für jede Infectionskrankheit die genaue Kenntniss des specifischen Erregers behufs besserem Verständniss der Aetiologie, der Diagnose, der Therapie u. s. w. unbedingt gefordert werden muss, braucht hier wohl nicht besonders betont zu werden, und wir können in Bezug auf Aktinomykose die Bemerkung Eppinger's[2], dass in der bei Weitem grösseren Zahl der diesbezüglichen Mittheilungen den morphologisch-biologischen Verhältnissen des gefundenen Aktinomycespilzes nicht die genügende Aufmerksamkeit geschenkt wurde, voll und ganz unterschreiben.

Es sei mir gestattet, die Fälle, welche ich in den letzten Jahren zu untersuchen Gelegenheit hatte, kurz anzuführen nebst einigen klinischen Daten.

I. Seltener Fall mit nicht ganz bestimmter Diagnose.

Fall I. 65jähriger Patient aus der Privatpraxis von Hrn. Privatdocent Dr. Armin Huber (Juli 1896). Für die freundliche Ueberlassung der Krankengeschichte spreche ich Hrn. Dr. A. Huber meinen besten Dank aus.

Patient war im Verlaufe des letzten Jahres sichtlich magerer geworden und litt am grauen Star. Harn 1895 und im Frühjahr 1896 eiweiss- und zuckerfrei. Patient verspürte plötzlich bei einem Spaziergange eine Schwäche im linken Bein und von daher hatte er das Gefühl, dass er das Bein immer etwas nachschleppe.

20. Juli. Zuckerausscheidung im Harn 1·3 Procent Traubenzucker. Specifisches Gewicht 1023. Antidiabetische Kost und seither verschwand der Zucker. Hingegen war stets reichlich gepaarte Glycuronsäure vorhanden. In den nächsten 8 Tagen Gewichtsabnahme ($1^1/_2$ kg). Patient klagt über Husten. L. Unterlappen kleinblasiges, spärliches, inspiratorisches Rasseln. An der linken Hand bestand ein Panaritium, das eröffnet wurde.

20. August. Abreise nach Karlsbad. Kleiner Furunkel am rechten Oberschenkel, der ohne ärztliche Behandlung verlief, desgleichen ein zweiter wenige Tage später. Einige Tage später Geschwulst über der 3. rechten Rippe von etwa Eigrösse. Die Haut darüber blieb lange intact, wurde auf Druck allmählich empfindlich, später Röthung der Haut. Jodpinselungen.

[1] A. a. O. S. 185.

[2] Lubarsch und Ostertag, *Jahresbericht*. 1896. S. 344.

8. September. Rückkehr. In den 18 Tagen wiederum Gewichtsabnahme von $2^1/_2$ kg. Stärkerer Husten mit zunehmender Schwäche und Mattigkeit. Incision der Abscesse auf der Brust (Dr. Kaufmann). Schleimiger Eiter mit Blut vermischt (wurde nicht bakteriologisch untersucht).

Leichte Dämpfung auf den Lungen (4. bis 8. Brustwirbel) mit lautem Bronchialathmen. Stark remittirendes Fieber. Morgens 37, Mittags 37·4 bis 39, Abends 39·3. Reichlicher eitriger, geballter, stinkender Auswurf ohne Tuberkelbacillen.

Inzwischen Geschwulst am linken Oberschenkel, mehrere Wochen lang indolent, gänseeigross, fluctuirend.

14 Tage später Pleuritis sicca dextra ant.

Nach weiteren 8 Tagen Schmerzen in der rechten Lendengegend, deutliche Vorwölbung. Allmählich deutliche Fluctuation. Probeincision ergiebt schleimigen, unangenehm riechenden Eiter (wird bakteriologisch untersucht). Im Harn nichts Besonderes. Starke Rosenbach'sche Reaction. Fortwährende Abmagerung. Anorexie. Rechte Lunge auffällig abgeschwächtes Athmungsgeräusch. Schüttelfröste.

6. November. Incision des Lumbalabscesses in Chloroformnarkose (Dr. Kaufmann). Es wird 1 Liter Eiter entleert. Drainage. Ebenfalls Incision des intermusculären Oberschenkelabscesses (beide Eiter werden bakteriologisch untersucht).

15. Novembor. Allmählich Exitus.

Section am 16. November. Herz braun, welk. Beide Pleuren partiell verwachsen.

Linke Lunge: auffällig blutreich, der obere Theil des Unterlappens ganz derb im Bereich von stark Faustgrösse. Schnittfläche: eitrig verfärbt; auf Druck entleert sich eine dünneitrige Flüssigkeit.

Rechte Lunge: nirgends infiltrirt, aber sehr schwer. Entleert überall auf Druck eine eitrig getrübte, mit wenig Luft vermischte Flüssigkeit.

Milz gross, matsch, ohne Eiter.

Leber gross, etwas verfettet, an der Oberfläche etwa in der Mitte des rechten Lappens ein eigrosser, ziemlich prominenter, scharf abgegrenzter Abscess mit schleimigem, grünlichgrauem, stinkendem Eiter. Die Wandung des Abscesses ist fetzig.

Pankreas gross, blutreich, derb.

Rechte Niere gross, blutreich, um die Niere herum grosse Abscesshöhle.

Linke Niere etwas kleiner, hämorrhagischer Infarct.

Magen und Darm nichts Besonderes.

Bakteriologische Untersuchung. Am 3. November wurden zuerst einige Kubikcentimeter Eiter aus dem Abscess in der Lendengegend zugeschickt. Es wurde auch der 3 Tage später bei der Operation entnommene Eiter, der Eiter aus dem Abscess am Oberschenkel, das Sputum und der Urin während des Lebens des Patienten bakteriologisch untersucht. Bei der Section wurde ferner entnommen: Herzblut, Lungensaft aus beiden Lungen und Eiter aus dem Leberabscess.

Bei der directen mikroskopischen Untersuchung des Eiters fiel auf, dass die gewöhnlichen Kokken und Stäbchen fehlten, dass bei oberflächlicher Untersuchung der einfach gefärbten Präparate zuerst nichts zu sehen



war, dass hingegen bei genauerer Betrachtung verschieden lange, dünne, zum Theil verzweigte, mehr oder weniger geschlängelte Fäden sich vorfanden, welche deutliche Endanschwellungen zeigten (Taf. IV, Fig. 1); daneben waren auch kürzere Stäbchen mit zugespitzten oder kolbig verdickten Enden häufig in Winkelstellung angeordnet vorhanden. Die Fäden bildeten stellenweise ein Gewirr mit mehr oder weniger verzweigten Ausläufern an der Peripherie. Die gefärbten Präparate lieferten nicht immer ein übereinstimmendes Bild: währenddem das eine Mal mit Methylenblau die Fäden sehr zart, kaum sichtbar homogen gefärbt erschienen, zeigten namentlich die mit Ehrlich'schem Gentianaviolett behandelten und nach Gram entfärbten Präparate eine unregelmässige Färbung, so dass die einzelnen Fäden aus verschieden langen Gliedern zusammengesetzt erschienen. Zwischen den einzelnen Gliedern waren die Lücken verschieden; eine deutliche Scheidewand konnte nicht nachgewiesen werden. Die Länge der einzelnen Fäden variirte sehr; einige maassen etwa 10 bis 100 μ, andere verliefen durch das ganze Gesichtsfeld. Nach Gram waren die Fäden erst bei länger dauernder Entfärbung blass oder entfärbt. In einigen Präparaten, namentlich aus länger aufbewahrtem Eiter, wurde um die in Ketten angeordneten Glieder herum eine deutliche helle, nicht gefärbte Zone beobachtet.

Der mikroskopische Befund war im Eiter aus den verschiedenen Abscessen, auch aus dem Leberabscess, ein vollständig übereinstimmender.

Im Sputum wurden (4. XI.) neben den gewöhnlichen Mikroorganismen die oben beschriebenen in ziemlich grosser Zahl nachgewiesen und zwar verzweigte Fäden nebst kürzeren Bacillen mit kolbigen Anschwellungen; trotz wiederholter Untersuchung wurden keine Tuberkelbacillen gefunden. — Die Untersuchung des Urins lieferte ein negatives Resultat.

Im Lungensaft beider Lungen waren Kokken, Bacillen und zahlreiche verzweigte Fäden, übereinstimmend mit den oben beschriebenen, vorhanden; diese Gebilde waren namentlich an denjenigen Stellen vorherrschend, wo die Infiltration am deutlichsten war, wie z. B. am oberen Theil des linken Unterlappens.

Im Herzblut waren dicke Bacillen, welche wohl post mortem eingewandert sind, nachweisbar; in der Milz wurden keine Mikroorganismen gefunden.

Die aus den infiltrirten Lungentheilen hergestellten Schnittpräparate zeigen Veränderungen eines chronischen entzündlichen Processes; die Alveolen sind stellenweise mit Fibrin ausgefüllt, an anderen Stellen ist die Zeichnung undeutlich, die Alveolenwand ist verdickt oder durchsetzt von bindegewebigen Zügen. Trotz Anwendung verschiedener Färbungsverfahren ist es nicht geglückt, in den Schnittpräparaten die Fäden deutlich zu färben und die Anordnung derselben im Gewebe genau festzustellen. Dass der fragliche Mikroorganismus in beiden Lungen enthalten war, hat die Untersuchung des ausgepressten und in Pipetten aufgefangenen Lungensaftes mit aller Bestimmtheit ergeben; der unbefriedigende Ausfall der histologischen Untersuchung lässt sich durch die schlechte Färbbarkeit der Fäden mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen und durch die Entfärbung bei langdauernder Einwirkung des Alkohols erklären.



Culturen. Mit den frisch erhaltenen Eiterproben aus den Abscessen am Oberschenkel und in der Lendengegend wurde eine grössere Anzahl von Culturen angelegt, aërob und anaërob. Zuerst wurde das Wachsthum in den im Vacuum bei Bruttemperatur aufbewahrten Bouillonculturen des Oberschenkelabscesses beobachtet; dann konnte auch eine ähnliche Entwickelung in der Tiefe der aëroben Bouillonröhrchen festgestellt werden. Daneben erwiesen sich einige Culturen aus dem Eiter des Lendenabscesses als verunreinigt: die typischen Colonieen wurden rasch von einem fluorescirenden, für Thiere pathogenen Bacillus (B. pyocyaneum) überwuchert. Das bei der Section aus den Lungen und aus dem Leberabscess entnommene Material war schon zu stark verunreinigt; eine Isolirung des fraglichen Mikroorganismus gelang nicht.

Die Merkmale der verschiedenen mit dem ursprünglichen Eiter geimpften Bouillon-Reinculturen sind folgende: In der Tiefe der Bouillon und zum Theil längs den Wandungen erscheinen nach einigen Tagen kleine Colonieen, welche bis zu kleinstecknadelkopfgross werden können; diese Colonieen sind rund, gelblich, scharf begrenzt; dieselben lassen sich mit dem Platindraht leicht zerdrücken und in ganz kleine Stückchen zertheilen. Ein oberflächliches Wachsthum wurde niemals beobachtet, weder in anaëroben noch in aëroben Culturen; in Zuckerbouillon (1 Procent Traubenzucker) war die Entwickelung anscheinend etwas üppiger. Die ursprünglich scharf abgegrenzten Colonieen lösten sich nach einiger Zeit auf und bildeten am Boden des Röhrchens einen diffusen Bodensatz. Die aus den ersten Culturen vorgenommenen Ueberimpfungen gelangen wiederholt; die Weiterentwickelung war meist spärlich, jedoch sehr deutlich; leider gelang, nachdem die Culturen durch mehrere Generationen etwa 3 Monate lang fortgezüchtet worden waren, eine weitere Uebertragung nicht mehr.

In der ursprünglichen Gelatine-Stichcultur hatte sich schon nach kurzer Zeit ein deutlicher kleiner Verflüssigungstrichter gebildet; die Verflüssigung schritt aber nicht weiter und die Uebertragungen in Gelatine zeigten keine Entwickelung; die Verflüssigung kann als eine durch den Eiter bedingte Peptonisirung betrachtet werden.

In Agar (Stich- und Strichculturen wurden wiederholt mit dem Eiter und mit den Bouillonculturen angelegt) kam es zu keiner deutlichen Weiterentwickelung.

Aehnlich wie in der Gelatine trat in einigen mit Eiter geimpften Serumröhrchen eine umschriebene Einziehung (Verflüssigung) ein; eine eigentliche Vermehrung wurde auf Blutserum nicht beobachtet.

Mikroskopisch waren in den Bouillonculturen dieselben Gebilde nachzuweisen wie in den verschiedenen directen Eiterproben: meist schlecht und unregelmässig gefärbte Fäden, zum Theil in streptoähnlicher Anord-



nung, kürzere Bacillen und sogar kokkenähnliche Formen (Taf. IV, Fig. 2). Verzweigungen waren nur spärliche vorhanden; an einigen Fäden und Verzweigungen waren die Enden deutlich verdickt.

Thierversuche.

Kaninchen I erhält 3 ccm Eiter aus dem Oberschenkelabscess subcutan: an der Injectionsstelle bildet sich ein scharf begrenzter Abscess, der sich nach 4 Tagen spontan eröffnet. In dem entnommenen Eiter sind mikroskopisch nur die fraglichen Mikroorganismen nachweisbar. Das Thier zeigt keine weiteren Krankheitserscheinungen.

Kaninchen II. Intraperitoneal-Injection von $^3/_4$ ccm Eiter (Oberschenkelabscess); nach 4 Tagen weitere intraperitoneale Injection von $2^1/_2$ ccm Eiter desselben Ursprunges. Das Thier bleibt gesund und nimmt an Körpergewicht zu. Einen Monat später stirbt das Kaninchen, 16 Stunden nach intravenöser Injection des aus dem Lendenabscess isolirten B. pyocyaneum. Bei der Section werden am Dickdarm, an verschiedenen Stellen der Darmserosa, am unteren Leberrande u. s. w. kleine gelbliche oder graue Anhängsel vorgefunden, welche Eiter mit den typischen verschieden langen Fäden und Stäbchen enthalten.

Bemerkenswerth ist dieser Versuch durch den mikroskopischen Nachweis des fraglichen Mikroorganismus in der Bauchhöhle einen Monat nach erfolgter Injection.

Kaninchen III erhält $2^1/_2$ ccm der Bouillon-Reincultur subcutan. In den nächsten Tagen ist eine deutliche Induration an der Injectionsstelle und nach 12 Tagen harte, scharf abgegrenzte, knollenartige Gebilde fühlbar. Am 25. Tage nach der Injection wird incidirt: der eine Knollen ist hart, wie verkalkt; im anderen ist gelblicher Eiter enthalten. Im Eiter sind mikroskopisch vereinzelte Fäden nachweisbar; eine mit dem Eiter angelegte Bouilloncultur zeigt das oben beschriebene charakteristische Aussehen. Das Thier zeigte keine weiteren Krankheitserscheinungen.

Bei Meerschweinchen trat nach subcutaner Injection von Eiter ein Abscess an der Injectionsstelle auf; nachdem die Thiere den Abscess aufgebissen hatten, kam es regelmässig zur Heilung; einmal wurde 7 Tage nach der Injection der Eiter aus einem Abscess überimpft und eine Reincultur des betreffenden Mikroorganismus erhalten.

Eine mit $1^1/_2$ ccm Bouillon-Reincultur subcutan injicirte weisse Maus zeigte nach 3 Wochen einen deutlichen Abscess; der in Bouillon überimpfte Eiter ergab wiederum eine Reincultur.

Der betreffende Mikroorganismus ist nach den mitgetheilten Resultaten im Stande, bei Kaninchen und bei Mäusen nach subcutaner Injection Eiterung zu erzeugen; seine Pathogenität war für die Versuchsthiere nicht gross: kein einziges Thier ging in Folge der Injection einer Reincultur zu Grunde. Ferner ist noch hervorzuheben.



dass derselbe nach 21 bezw. 25 Tage langem Verweilen im Thierkörper noch entwickelungsfähig war.

Nach einigen Wochen waren im Eiter gelbliche, kaum stecknadelkopfgrosse Körnchen sichtbar, welche eine etwas härtere Consistenz annahmen; diese Körnchen sind jetzt, d. h. nach 4 Jahren, in dem steril in zugeschmolzenen Pipetten aufbewahrten Eiter noch deutlich; makroskopisch entsprechen dieselben Aktinomycesdrusen; im mikroskopischen Präparate waren die nämlichen Fäden und Stäbchen wie im frischen Eiter nachweisbar. Culturen konnten nach einiger Zeit nicht mehr erhalten werden. Es sei hervorgehoben, dass wir das Vorhandensein von ähnlichen Gebilden im frischen Material nicht constatiren konnten. Es muss somit angenommen werden, dass sich der fragliche Mikroorganismus im aufbewahrten Eiter weiter entwickelt hat. Diese Beobachtung stimmt mit denjenigen von Weigert und von Langhans[1], wonach sich die Körner nach dem Tode weiter entwickeln können, überein.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Eiterproben aus den verschiedenen Abscessen war, wie betont, der Befund ein vollständig übereinstimmender.

Die ätiologische Bedeutung des regelmässig vorgefundenen und wiederholt rein gezüchteten Mikroorganismus darf wohl anerkannt werden, obschon es uns nicht gelungen ist, bei Thieren eine ähnliche Erkrankung mit Metastasen zu erzeugen. Es handelt sich um eine reine Infection; der häufige aber nicht constante Befund von einigen anderen Mikroorganismen, namentlich von B. pyocyaneum in den Culturen, nicht aber im directen Präparat genügt nicht zur Annahme einer Mischinfection. Nach dem ganzen Verlaufe ist anzunehmen, dass die Eintrittspforte bezw. der primäre Krankheitsherd die Lunge war, und dass die Verbreitung von der Lunge aus wahrscheinlich auf dem Blutwege stattgefunden hat.

Dieser Fall hat eine gewisse Aehnlichkeit mit dem von Buchholtz[2] beschriebenen; ich möchte aber hervorheben, dass in jenem Fall der mikroskopisch in den Lungenschnitten nachgewiesene Mikroorganismus weder im Eiter des Empyems noch im Eiter der zerklüfteten Höhlen in der Lunge gefunden wurde und dass eine Züchtung auf künstlichen Nährböden nicht gelang.

Die Zutheilung des in unserem Falle regelmässig gefundenen Mikroorganismus war anfänglich schwer. Ich hatte Gelegenheit, vor Jahren sehr erfahrenen Forschern Culturen und Präparate vorzuzeigen und die Frage aufzuwerfen, ob es sich nicht um Aktinomykose handeln könne.

[1] *Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte.* 1885. S. 329 u. 371.
[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIV. S. 470.



Es führte die meist bacilläre Form, die sehr spärlichen Verzweigungen und der Mangel an typischen Drusen mit Keulen zur Annahme, dass der betreffende Mikroorganismus mehr bacillärer Natur sei, und ich reihte die Erkrankung den sogenannten Pseudotuberculosen ein. Heutzutage, nachdem ich durch eingehende Untersuchung die pathogenen Streptothricheen genauer kennen gelernt habe, neige ich zur Diagnose Aktinomykose.

II. Fälle von Aktinomykose des unteren Thränencanälchens.

Dank der Freundlichkeit von Hrn. Dr. Baenziger, Augenarzt in Zürich, konnte ich im Laufe eines Jahres 3 Fälle untersuchen, welche klinisch als „Aktinomykose des unteren Thränencanälchens" diagnosticirt worden waren. Ueber das Ergebniss der bakteriologischen Untersuchung von zwei dieser Fälle habe ich schon berichtet.[1] Hier will ich das an anderer Stelle Mitgetheilte nur kurz resümiren und vervollständigen.

Fall 2. Frau D. Die mit einem sterilen Wattetampon bei der Operation entnommenen Concremente bestanden aus kleinen, kaum sichtbaren, gelblichen, ziemlich consistenten Körnchen. Mikroskopisch war im ungefärbten Präparate nicht viel zu erkennen: sehr feine Fäden mit Detritus; keine Keulenbildung. Im gefärbten Ausstrichpräparate waren sehr dünne, schwer färbbare, mit verschiedenen Farbstoffen verschieden gefärbte Fäden sichtbar, die nach Gram nicht entfärbt wurden. Häufig erscheinen die gefärbten Fäden wie aus rundlichen kurzen Kokken zusammengesetzt, so dass dieselben Streptokokken vortäuschen können, allerdings mit unregelmässigen Gliedern. Die Fäden waren verschieden lang; kurze Formen in überwiegender Mehrzahl; an einigen Stellen waren die Enden deutlich verdickt. Keulen oder eine radiäre Anordnung der Fäden wurden nicht beobachtet. Auch in diesem Falle konnten Culturen des fraglichen Mikroorganismus erhalten werden und zwar hauptsächlich anaërobe. Die oberflächlichen Culturen auf Agar, auf erstarrtem Blutserum und auf Kartoffel entwickelten sich nicht weiter. In Gelatine war wie im weiter oben mitgetheilten Falle nur in dem mit dem ursprünglichen Materiale geimpften Röhrchen ein kleiner Verflüssigungstrichter zu sehen; eine Weiterentwickelung fand bei niedriger Temperatur nicht statt. In Bouillon war die Anaërobiose keine strenge; die Culturen entwickelten sich auch bei Luftzutritt, allerdings nur in der Tiefe des Röhrchens. Die Entwickelung war am stärksten in 1 procentiger Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 10 Tropfen 1 procentiger Schwefelnatriumlösung (nach Trenkmann). Zu einem üppigen Wachsthum kam es aber nicht. Es bildeten sich bei Bruttemperatur nach wenigen Tagen kleine gelbliche oder grauweisse Klümpchen, häufig maulbeerartig, welche sich bei kräftigem Schütteln oder mit dem Platindraht leicht zertheilen lassen. In der Tiefe von Agar sind nach einigen Tagen rundliche, kaum

[1] Ueber zwei Fälle von Pilzmassen im unteren Thränencanälchen. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVII. S. 486.



stecknadelkopfgrosse Colonieen mit unebener Oberfläche sichtbar; in den Stichculturen erfolgt das Wachsthum längs des Stiches; die Umgebung erscheint diffus, nebelig getrübt; die isolirten Colonieen bestehen aus einem dichteren Centrum und aus einer helleren Peripherie. Bei der mikroskopischen Untersuchung fielen vorerst die kurzen diphtheriebacillenartigen Stäbchen auf; daneben kamen auch längere fadenförmige Gebilde mit und ohne Verzweigungen und besonders in älteren Culturen sogar coccobacillenähnliche Formen vor. Nach subcutaner oder nach intraperitonealer Injection von Reinculturen bei Kaninchen und Mäusen kam es zur Abscessbildung. Der betreffende Mikroorganismus ist im Stande Eiterung zu erzeugen; seine Pathogenität für die verwendeten Versuchsthiere war aber keine grosse.

In der hier resümirten Veröffentlichung kam ich zum Schlusse, dass der fragliche in Reincultur aus den ursprünglichen Concrementen erhaltene Mikroorganismus den Streptothricheen (Kruse) zuzurechnen sei. Die Culturen liessen sich nach etwa 3 Monaten nicht weiter überimpfen.

Fall 3. Frau M. L. In diesem Falle wurden die Concremente erst etwa 6 Monate nach der Operation zur Untersuchung eingeschickt (unterdessen war das Material gut verschlossen in einem Glasröhrchen aufbewahrt worden). Die directe mikroskopische Untersuchung der etwa linsengrossen, gelblichen, noch feuchten Masse lieferte ein ähnliches Resultat wie im Falle 2: wiederum schwer färbbare dünne Fäden mit Verzweigungen, daneben einige dickere Bacillen und kokkenartige Gebilde. Die mit dem erhaltenen Material angelegten Culturen waren rein; es entwickelte sich in den verschiedenen Nährböden aërob ein Mikroorganismus, welcher ebenfalls den Streptothricheen angehört und welcher mikroskopisch den im Eiter gefundenen Gebilden entspricht (Taf. III, Fig. 8). Dieser Mikroorganismus ist von dem im 2. Falle isolirten verschieden. Er gedeiht gut bei Zimmertemperatur und bildet in Gelatine runde, scharf abgegrenzte, nicht verflüssigende, feucht glänzende Colonieen; auf Agar, Blutserum und auf der Kartoffel entstehen bei einer Temperatur von 22° C. erhabene, feucht glänzende, grauweissliche, später mehr hellrosarothe Colonieen, welche rasch verschmelzen und zerfliessen und am Nährboden nicht fest haften bleiben; in der Bouillon ist eine Kahmhaut schon nach kurzer Zeit sichtbar, feucht, nicht zusammenhängend, welche später zu Boden sinkt. Die Culturen waren für Thiere nicht pathogen. Dieselben wuchsen ursprünglich nur bei niedriger Temperatur. Eine aus dem Thierkörper angelegte Cultur wuchs auch bei Bruttemperatur. In letzter Zeit ist es mir wiederholt gelungen, Culturen bei Temperaturen von 33 bis 36° C. weiter zu züchten, obschon auch jetzt noch das Wachsthum nicht so üppig erfolgt wie bei einer etwas niedrigeren Temperatur. Die bei 33 bis 36° C. gezüchteten Culturen zeigten ein etwas abweichendes Verhalten; auf Agar und auf Blutserum waren die Colonieen etwas weniger erhaben und gleichzeitig trockener; in einer Bouilloncultur entstand keine Kahmhaut, sondern einzelne kuglige Colonieen am Boden des Gefässes. Die Culturen lassen sich sehr gut weiter züchten.

Da die Möglichkeit einer nachträglichen Verunreinigung nicht ausgeschlossen werden kann, will ich den in den Culturen rein erhaltenen



Mikroorganismus nicht mit Bestimmtheit als den specifischen Krankheitserreger ansprechen, obschon mir dessen ätiologische Bedeutung sehr wahrscheinlich erscheint. Interessant ist jedenfalls die Anpassungsfähigkeit desselben an verschiedene Temperaturen und das verschiedene Aussehen seiner Culturen (siehe Taf. III, Figg. 6 u. 7).

Fall 4. Frl. Sch. Das Material wurde gleich bei der Operation (Incision des unteren Thränencanälchens) möglichst steril entnommen. Die sofortige mikroskopische Untersuchung im ungefärbten Zustande der weichen gelblichen Masse liess nichts Deutliches erkennen; namentlich konnten keine Keulen nachgewiesen werden. Im gefärbten Präparate waren Fäden mit kolbigen Anschwellungen und mit Verzweigungen vorhanden, welche etwas länger waren als in Fall 2 und 3, im Uebrigen sich aber ähnlich verhielten; daneben waren Kokken nachweisbar. — Die ursprünglichen frisch angelegten Culturen waren mit Kokken verunreinigt; die Isolirung und Weiterzüchtung des Fadenpilzes war möglich, obschon hier wiederum die Uebertragung nach etwa 2 Monaten nicht mehr gelang. Der isolirte Mikroorganismus verhielt sich in Bezug auf Wachsthumsbedingungen ähnlich wie die in Fall 1 und 2 isolirten, die Culturen waren jedoch etwas verschieden. In der anaëroben Bouilloncultur waren nach 2 Tagen kleine grauweissliche Colonieen sichtbar; die Colonieen waren nicht so dicht wie in Fall 1 und 2 und bildeten vielmehr watteähnliche zusammenhängende Fetzen, die sich beim Schütteln aufwirbeln liessen. Bei Luftzutritt fand Weiterentwickelung statt, aber nur in der Tiefe des Röhrchens. Auch in Agar kam es zur Bildung von kleinen grauen, kaum stecknadelkopfgrossen, rundlichen Colonieen, nur in der Tiefe; an der Oberfläche erfolgte kein Wachsthum. Die anaëroben Culturen, ganz besonders die Bouilloncultur, zeichneten sich durch einen starken, unangenehmen Geruch aus, ähnlich demjenigen einer Tetanuscultur. Sehr gut entwickelte sich der Mikroorganismus in einem frischen Eie. Nach 1 Monate war an der Innenwand der Schale ein dünner, ziemlich fester Belag (einzelne Colonieen waren nicht zu erkennen), der hauptsächlich aus einem Fadengeflecht bestand. Die Cultur war mit Kokken verunreinigt.

Der in diesem Falle isolirte Mikroorganismus zeichnete sich mikroskopisch namentlich durch die viel längeren Fäden aus (Taf. IV, Fig. 9). Die dünnen Fäden waren besonders lang (mehr als 100 μ) in dem Ei und in den Bouillonculturen, zum Theil deutlich geschlängelt, zum Theil verzweigt. In den Klatschpräparaten bildeten die Fäden ein Filzwerk mit ziemlich weiten Maschen; kolbenförmige Verdickungen waren in den Agarculturen deutlich. Die Färbung war wiederum eine verschiedene: in einigen Präparaten waren die Fäden gleichmässig, in anderen nur stellenweise gefärbt, so dass dieselben aus Kokken und aus stäbchenförmigen Gliedern zusammengesetzt erschienen. Nach länger dauernder Einwirkung des Alkohols bei der Gram'schen Methode trat Entfärbung ein. Die Pathogenität war nicht gross; Mäuse und Meerschweinchen, welche 6 bis 10 Tage nach subcutaner oder nach intraperitonealer Injection von Culturen getödtet wurden, zeigten keine Veränderungen; nur bei einem Meerschweinchen wurde an der Injectionsstelle ein ganz kleiner Eiterherd mit dem typischen Mikro-



organismus beobachtet. Andere Thiere, welche mehrere Wochen lang in Beobachtung blieben, zeigten keine Krankheitserscheinungen.

Es darf nach dem Ergebniss der bakteriologischen Untersuchung der durch mehrere Generationen hindurch gezüchtete Mikroorganismus als der Krankheitserreger angesprochen werden.

Die in den 3 Fällen von Aktinomykose des unteren Thränencanälchens isolirten Fadenpilze dürfen nicht ohne Weiteres als einer und derselben Art gehörig angesprochen werden. Die in Fall 2 und 4 gefundenen, welche culturell eine gewisse Aehnlichkeit aufwiesen, zeigten doch namentlich bei der mikroskopischen Untersuchung der Culturen (in Fall 2 waren die kurzen Formen, in Fall 4 die langen dünnen Fäden vorherrschend) deutliche und constante Unterschiede. Leider konnten aber die fraglichen Mikroorganismen nur kurze Zeit weiter gezüchtet werden.

In meiner schon erwähnten Mittheilung[1] der Fälle 2 und 3 hatte ich mich gegen die Diagnose Aktinomykose ausgesprochen in der Annahme, dass diese Erkrankung nur durch einen bestimmten Mikroorganismus bedingt sei. Die Gründe, welche mich bewogen haben, meine Auffassung zu verändern, werde ich weiter unten anführen. Hier sei noch erwähnt, dass alle 3 Fälle nach der Incision rasch geheilt sind. In dem einen (2.) Falle war die im unteren Thränencanälchen angesammelte Masse zuerst ausgedrückt worden; es kam aber nach einigen Wochen zu einem Recidiv, das erst nach der Spaltung des unteren Thränencanälchens definitiv geheilt wurde.

III. Fälle von typischer menschlicher Aktinomykose.

Im Laufe des letzten Jahres konnte ich den Eiter von 4 Fällen von Aktinomykose untersuchen mit typischem Drusenbefund (Keulen und Fäden), welche auch klinisch das Bild der Aktinomykose darboten.

In dem einen Fall von Hrn. Dr. W. von Muralt waren neben den Drusen massenhaft Kokken (namentlich Staph. pyog. aur.), so dass die Isolirung sehr schwer fiel; es gelang mir schliesslich, in einem flüssig geimpften und dann erstarrten Agarröhrchen einige typische Colonieen zu untersuchen, welche makroskopisch und mikroskopisch den in den drei anderen Fällen erhaltenen entsprachen, welche aber trotz Ueberimpfung auf verschiedenen Nährböden nicht weiter wuchsen.

Ich werde mich damit begnügen, 3 Fälle näher anzuführen, bei welchen eine vollständige bakteriologische Untersuchung ausgeführt werden konnte. Die 2 folgenden Fälle wurden in der Chirurgischen Abtheilung des Cantonspitals behandelt; für die freundliche Ueberlassung der Krankengeschichten spreche ich Hrn. Prof. Dr. Krönlein meinen besten Dank aus.

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVII. S. 491.



Fall 5. Hr. H. Aktinomykose des Oberkiefers bei einem 28jähr. Schlosser.

Krankengeschichte. Patient liess sich im Januar 1900 von einem Zahnarzte einige Zähne ziehen und erhielt nach 4 bis 5 Wochen ein künstliches Gebiss. Anfangs März verursachte die Platte Schmerzen beim Kauen und zugleich trat eine Schwellung der rechten Wange auf. Die Geschwulst nahm zu und Patient verfügte sich Anfangs April in die chirurgische Poliklinik, woselbst zu zwei verschiedenen Malen incidirt wurde. (Der steril entnommene Eiter wurde bakteriologisch untersucht.)

Beim Spitaleintritt am 26. April ist die rechte Wangengegend geschwollen bis an das Auge; auf der Höhe der Schwellung befinden sich noch drei halbnussgrosse Knoten derb, wallartig indurirt an der Peripherie, währenddem in der Mitte eine nicht deutliche Fluctuation durchzufühlen ist; die Knoten sind nicht frei verschieblich auf der Unterlage. Die noch nicht eröffneten Knoten werden incidirt und alles kranke Gewebe ausgekratzt. Bei der Operation wird, wie bei den früheren Eingriffen, eine krümlige Masse entleert, bestehend aus kleinen und aus kleinsten gelblichen Körnchen mit Blut vermischt. Es wird ein Jodoformgaze-Kissenverband angelegt und 4 Injectionen von 2 bezw. 2·5 ^{ccm} steriler 1procentiger Jodkaliumlösung in das angrenzende Gewebe im Verlaufe der nächsten 3 Wochen ausgeführt. Daneben wurde Jodkalium innerlich verordnet. Am 2. Juni wird eine weitere kleine, dicht unter dem äusseren rechten Augenwinkel allmählich entstandene Geschwulst incidirt; kein Eiter, bloss einige granulöse Fetzen. Am 12. Juni ist das Oedem ganz, die Schwellung grösstentheils zurückgegangen und Patient verlässt das Spital. Vor Kurzem stellte sich Patient nochmals ein, vollständig geheilt.

Bakteriologische Untersuchung. In dem bei der ersten Incision entnommenen Eiter waren kleine bis stecknadelkopfgrosse, gelbliche Drusen enthalten, welche an der Peripherie die typischen hellen Keulen und im Centrum ein undeutliches Gewirr erkennen liessen. — Im gefärbten Ausstrichpräparat des Eiters sind verschieden lange, zum Theil verzweigte Fäden, daneben aber kürzere Stäbchen und kokkenartige Gebilde, welche sich in Bezug auf Färbbarkeit ähnlich wie die längeren Fäden verhielten. Es stellte sich durch die culturelle Untersuchung heraus, dass die verschiedenen Formen einem und demselben Mikroorganismus angehören.

Die verschiedenen mit dem zuerst erhaltenen Eiter angelegten Culturen waren sämmtlich rein. Dieselben konnten 4 Monate lang (etwa 10 Generationen hindurch) weiter gezüchtet werden und zeigten stets dieselben Merkmale; nach den Ferien gelang die weitere Ueberimpfung nicht mehr. Aërobe Agar- und Serumstrichculturen gingen nicht an; hingegen war das Wachsthum in der Tiefe von Bouillon und von Agar ein ziemlich gutes. Am üppigsten war die Entwickelung in 1 Procent Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 10 Tropfen 1 procentiger Schwefelnatriumlösung. Nach 2 bis 3 Tagen waren am Boden des Röhrchens und auch längs der Wandungen kleine Colonieen sichtbar; diese Colonieen bilden häufig am Boden des Röhrchens einen pyramidenartigen Klumpen (Taf. III, Fig. 4), wobei die kugelförmigen Contouren der einzelnen Colonieen an der Oberfläche deutlich zu erkennen sind. Andere Male, namentlich in gewöhnlicher Bouillon ohne Zusatz sind nur wenige Colonieen vorhanden. Die Colonieen lassen sich



leicht zerdrücken und auch in den grossen Klumpen besteht kein dichtes, festes Filzwerk; die einzelnen Stückchen lassen sich auch ausbreiten, ohne dass ein Zerzupfen erforderlich wäre. Auch durch kräftiges Schütteln kann man die Colonieen zerbröckeln. Die anaëroben Culturen entwickelten sich gut und zeichneten sich durch den schon in Fall 4 angeführten unangenehmen Geruch aus. Die Agarstrichculturen zeigten nur in der Tiefe des Condenswassers Colonieen, welche den in der Bouilloncultur beobachteten glichen. In dem flüssig geimpften und dann erstarrten Agar kam es zur Bildung von kleinen hirsekorn- bis stecknadelkopfgrossen grauen Colonieen, welche scharf begrenzt sind; Ausläufer im Innern des Nährbodens waren keine nachweisbar.

Wie in den Fällen 1 und 2 kam es in der Gelatine zur Verflüssigung an den mit Körnchen geimpften Stellen; eine Weiterentwickelung konnte aber nicht beobachtet werden.

Die mikroskopische Untersuchung der Colonieen in Bouillon oder im Condensationswasser der Agarcultur ergab Folgendes: zwischen Objectträger und Deckgläschen betrachtet erscheint die nicht zerquetschte Colonie rundlich; das Centrum ist dicht, undurchsichtig, währenddem am Rande zahlreiche gerade mehr oder weniger verzweigte Fäden vorhanden sind, ohne regelmässige Anordnung. Im Klatschpräparat bilden die Fäden ein ziemlich engmaschiges Gewirr; die Fäden sind aber nicht so lang wie in Fall 4 (höchstens etwa 50 μ). Die kürzeren stäbchenförmigen Gebilde überwiegen. Die Färbung gelang am besten mit Ehrlich'schem Gentianaviolett, auch mit Carbolfuchsin, weniger gut mit Löffler'schem Methylenblau; nach Gram wurde der Mikroorganismus nicht entfärbt, hingegen sehr leicht nach der Ziehl-Neelsen'schen Methode. Der Pleomorphismus ist sowohl in Bezug auf Form als auf Färbbarkeit ein sehr grosser. Die Fäden erscheinen oft wie aus Stäbchen zusammengesetzt, namentlich in den Präparaten nach Gram. Die kurzen Formen sind meist gebogen, an den Enden entweder zugespitzt oder kolbig verdickt, parallel oder in Winkelstellung angeordnet, ziemlich oft verzweigt, Diphtheriebacillen ähnlich. Auffallend war auch, dass die Stäbchen und Fäden nicht alle gleich dick erschienen und dass die verschiedenen hier angeführten Formen in einem und demselben Präparat neben einander beobachtet werden konnten (Taf. IV, Fig. 4).

Thierversuche.

Einem Kaninchen wurden einige Cubikcentimeter einer 5 tägigen Bouilloncultur in die Ohrvene injicirt; das Thier, welches keine Krankheitserscheinungen zeigte, wurde am 7. Tag nach der Injection getödtet. Bei der Section konnten keine Veränderungen festgestellt werden.

Ein Meerschweinchen erhielt 4 ^{ccm} Bouilloncultur zum Theil subcutan, zum Theil intraperitoneal injicirt und wurde 5 Tage später getödtet und secirt. An der Injectionsstelle ist etwas Eiter und am Omentum majus sind zwei scharf abgegrenzte kleine Eiterherde mit trockenem, bröckeligem Inhalt. Mikroskopisch (Taf. IV, Fig. 3), und culturell wurde der injicirte Mikroorganismus in Reincultur vorgefunden. — Ein zweites intraperitoneal geimpftes und nach 17 Tagen getödtetes Meerschweinchen zeigte gar keine Veränderungen.



Der reingeimpfte specifische Mikroorganismus kann als wenig pathogen für Kaninchen und für Meerschweinchen bezeichnet werden; er ist aber im Stande Entzündung, bezw. Abscessbildung zu erzeugen.

Fall 6. Herr B. Aktinomykose des Mundbodens bei einem 31jähr. Lokomotivheizer.

Krankengeschichte. Patient führt sein Leiden auf eine Erkältung zurück, die er sich während des Fahrens Mitte August zugezogen hat. Etwa 1 Monat lang litt er an Ohren- und Gesichtsschmerzen. Am 18. September 1900 bemerkte er eine harte Schwellung unterhalb des Kinnes, die ihm beim Kauen und beim Schlucken Beschwerden verursachte. Der behandelnde Arzt beobachtete Ende September eine phlegmonöse Entzündung, ausgegangen von einem cariösen Zahne; der Zahn wurde extrahirt, die Schwellung nahm aber trotzdem eher zu. Patient fieberte bis auf 39°. Beim Spitaleintritt am 5. Oktober war der Mundboden etwas mehr gegen links hin hart infiltrirt; von aussen reicht der stark prominente harte Wulst bis zum Hyoid hinab. Die Schwellung umfasst auch die Glandulae submax. Es wird die Diagnose Phlegmone des Mundbodens, fragl. Angina Ludovici (?) gestellt und am 6. October eine 7 cm lange parallel dem linken Unterkieferrand verlaufende Incision ausgeführt. In der Tiefe, durch den Mylohyoideus hindurch wird ein Abscess eröffnet, welcher gelbgrauen, etwas dünnflüssigen Eiter enthält, der mit einzelnen Körnchen untermischt ist. Am 13. October zweite Operation und Incision in der Mittellinie eines ziemlich oberflächlichen Abscesses, welcher eine ausgedehnte Schwellung bis zum Schildknorpel verursacht hatte. Die Secretion nimmt ab, die Infiltration ebenfalls, das Fieber lässt nach. Patient wird am 7. November auf seinen Wunsch entlassen, bleibt aber noch unter Controle der chirurgischen Poliklinik.

Bakteriologische Untersuchung. Im ersten bei der Incision auf steriler Gaze aufgefangenen mit Blut vermengten spärlichen Eiter wurden keine Drusen gefunden. Eine weitere bei der zweiten Incision aufgefangene Eiterprobe zeigte schon makroskopisch eine Anzahl kleiner graugelblicher verschieden grosser Körnchen; trotz genauer Untersuchung konnten im ungefärbten Klatschpräparate des Eiters Keulen nicht mit Bestimmtheit nachgewiesen werden. Im gefärbten Klatschpräparate sind Conglomerate von Fäden ohne Keulen; in den Ausstrichpräparaten (Taf. IV, Fig. 7) vom Eiter erkennt man die Einzelheiten besser: die Fäden sind pleomorph, verschieden lang, verschieden dick, verzweigt mit häufig intensiver gefärbten kolbigen Endanschwellungen. Die in flüssigem und dann wieder zum Erstarren gebrachten Agar und in Bouillon mit dem frischen Eiter angelegten Culturen ergaben ein übereinstimmendes Resultat; bei der Weiterimpfung entwickelten sich die Colonieen sowohl in aërob gehaltener als in anaërober Bouillon am Boden des Gefässes. Die anaëroben Culturen zeichneten sich wiederum durch den eigenartigen unangenehmen Geruch aus. Am üppigsten war die Entwickelung in 1 Procent Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 10 Tropfen 1 procentiger Schwefelnatriumlösung pro Röhrchen.

Die Bouillon blieb stets klar; am Boden und häufig auch längs der Wandungen, nicht aber an der Oberfläche entstehen kleine bis stecknadelkopfgrosse Colonieen; die aërobe Cultur in Bouillon ohne Zusatz mit der



feinen kaum sichtbaren grauweissen Pünktchen längs den Wandungen und mit dem spärlichen Bodensatz erinnert an das Wachsthum des Diphtheriebacillus. In Zuckerbouillon mit Zusatz von Schwefelnatrium ist der Bodensatz viel üppiger und besteht aus unregelmässigen manchmal schleimigen Klumpen; einzelne Colonieen kann man darin nicht erkennen, obschon die Zertheilung der Klumpen leicht gelingt.

In Agar war das Wachsthum unter der Oberfläche am üppigsten, die Colonieen bleiben getrennt, je nach der überimpften Menge sind dieselben kaum sichtbar punktförmig bis stecknadelkopfgross, grau oder gelblich, rund, aber nicht ganz regelmässig; keine Ausläufer in der Tiefe (Taf. III, Figg. 1 u. 2). Auf den oberflächlich geimpften Agarstrichculturen fand kein Wachsthum statt; auf einem mit Schwefelnatrium vermengten Agarröhrchen und auch in einer anaërob aufbewahrten Strichcultur schien es zu einer geringen Weiterentwickelung gekommen zu sein, ein deutliches Wachsthum fand aber auch hier nicht statt.

In Gelatine (bei 22° C. aufbewahrt) auf Kartoffel und auf Serum (Strich) keine Weiterentwickelung. In der Milch war nach 14 Tagen keine Veränderung wahrnehmbar. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Bouillonculturen sind die schlanken Formen, welche etwa 2 bis 3 Mal länger sind als die gewöhnlichen mittleren Diphtheriebacillen in der überwiegenden Mehrzahl; daneben sind längere und auch kürzere dünne, schlanke Gebilde (Taf. IV, Fig. 8). Die Stäbchen, welche häufig wie abgebrochene Stücke von längeren Fäden aussehen, sind meist gekrümmt oder stumpfwinklig geknickt und verzweigt; die Enden sind zugespitzt aber unscharf begrenzt, oder deutlich kolbig verdickt. In den Klatschpräparaten und an den dichter ausgestrichenen Stellen tritt die Parallelanordnung in den Vordergrund; die parallel angeordneten Gruppen bilden aber keine langen Fäden, höchstens Zöpfe, welche etwa mit Klümpchen von Tuberkelbacillen verglichen werden könnten. Die Färbung ist eine ungleichmässige; häufig war eine Polkörnchenfärbung zu erkennen, ähnlich wie beim Diphtheriebacillus; die von Neisser angegebene Methode lieferte aber keine deutlichen Bilder. — Die beschriebenen Bilder entsprechen auch den Präparaten aus den Agarculturen; es waren aber mehr kurze Formen, diptherieähnlich.

In den Klatsch- und Schnittpräparaten der Colonieen in Agar war hier wiederum eine deutliche radiäre Anordnung nicht zu erkennen; das Centrum ist dicht, an der Peripherie sieht man einige kurze unregelmässig angeordnete Fäden.

Thierversuche.

Es wurden nur einige wenige subcutane und intraperitoneale Injectionen an Meerschweinchen ausgeführt, ohne positives Resultat; nach 14 Tagen war nichts mehr nachweisbar. Einem Kaninchen wurde nach der von Roux und Salimbeni angegebenen Methode ein Collodiumsäckchen mit etwas Bouillon und mit einem Stückchen einer Agarcultur in die Bauchhöhle eingeführt. Das Thier blieb gesund und wurde 16 Tage nach der Operation getödtet und secirt: das Säckchen war in der Leber nächst der Wirbelsäule eingenistet, der Inhalt schien nicht verändert, mikroskopisch und culturell war der Mikroorganismus rein nachweisbar, eine deutliche Vermehrung schien nicht stattgefunden zu haben. — Zwei Mäuse erhielten eine Aufschwemmung



einer frischen Agar und einer frischen Bouillon subcutan, bezw. intraperitoneal injicirt und wurden 18 Tage später getödtet. Die subcutan geimpfte Maus hatte einen ziemlich ausgedehnten Eiterherd an der Injectionsstelle; in dem dicken, zähen Eiter sind mikroskopisch die wenig verzweigten Fäden in ziemlich grosser Menge nachweisbar. Das andere Thier zeigte keine Veränderungen.

Fall 7. Frau F. Ausgebreitete Aktinomykose am Rücken. Patientin befand sich in letzter Zeit in Behandlung der medicinischen Poliklinik (Director Prof. Dr. H. Müller). Ihre Erkrankung begann vor etwa $3^1/_2$ Jahren. Aus der mir von Hrn. Dr. O. Nägeli, Privatdocenten und Assistenten an der medicinischen Poliklinik, freundlichst zur Einsicht übergebenen Krankengeschichte, wofür ich Hrn. Professor Dr. Müller und ihm bestens danke, entnehme ich Folgendes:

Krankengeschichte. Die 35 jährige Patientin giebt an, dass die Krankheit Anfangs März 1897 mit Stechen in der rechten Brustseite, aber ohne Husten begonnen hatte.

Im Mai wurde die Diagnose auf Pleuritis inveterata gestellt und Jodkalium verordnet. Der Arzt wies die Patientin, welche nun eine deutlich hervorgewölbte Stelle rechts unten zeigte, zur Punction in die medicinische Klinik (Prof. Dr. Eichhorst) des Cantonspitals am 15. Juni. Bei der Probepunction konnte kein Eiter aspirirt werden; nach und nach kam es aber zur Abscessbildung, und Patientin wurde auf die chirurgische Klinik gebracht (Director Prof. Dr. Krönlein). Status: Die Lungen geben lauten Schall, ausser an einer handbreiten Stelle über dem rechten Unterlappen. Athmung überall vesiculär. In der rechten Thoraxseite über der 10. und 11. Rippe von der Wirbelsäule bis in die Linea axill. ant. eine gut handbreite teigige Schwellung, über welcher die Haut stellenweise geröthet ist und deutliche Fluctuation zeigt. In der rechten Axilla fistelartige secernirende Incisionsöffnungen; daneben eine nussgrosse sehr empfindliche fluctuirende Stelle, an der die Haut geröthet ist und dünn. Die Diagnose lautet: Actinomycosis pleurae et costarum. Abscess. metast. axill. dext. Bei der am 3. August vorgenommenen Operation wird ziemlich viel mit goldgelben Körnern vermischter Eiter entleert. Massenhafte Granulationsgewebe schwartig. Ausräumen mit scharfem Löffel, wobei man fast bis zur Pleura gelangt. Im Abscess der Axilla grüner, zäher Eiter. Jodoformgazeverband. Jodkalium innerlich. Das dem pathologischen Institut übersandte Granulationsgewebe mit starkem fettigem Zerfall der Zellen enthielt ziemlich viele aber meist kleine Aktinomycesdrusen mit deutlichen strahligen Pilzrasen und feinen Endkolben. Die Fisteln heilen, die Thoraxwunde secernirt nur wenig. Am 22. August ist in der rechten Axilla ein ziemlich derber kirschgrosser Knoten zu fühlen, der pflaumengross wird, fluctuirt, und am 31. incidirt wird: grünlicher Eiter mit einigen ganz gelben Körnchen. Am 16. September wird am Rücken eine etwa 2 Frankenstück grosse geröthete, fluctuirende Stelle notirt; am 21. erstreckt sich die Dämpfung bis zum Angul. scapulae: Athemgeräusch und Stimmfremitus beinahe aufgehoben. Auf Wunsch der Patientin wird dieselbe aus dem Spital entlassen und poliklinisch weiter behandelt. Während des Winters 1897/98 war die

Patientin zu Hause immer im Bette; in der rechten Seite entstand wieder ein grosser Abscess, später im Rücken. Patientin magert ab. Im Sommer 1898 entstehen weiter schmerzhafte Röthungen, darauf Abscesse und Fisteln; im Eiter sind nach Angabe der Patientin grünliche Körperchen wie „Gries" enthalten. Im Winter 1898/99 und im Sommer 1899 sind keine neuen Abscesse entstanden; es fliesst aber stets Eiter aus den Fisteln. Im Winter 1899/1900 trat ein weiterer Abscess am Halse auf, der sich spontan öffnete; die Fistel blieb bestehen. — Im April 1898 war Patientin nach vorn gebeugt; zeitweise war die Haltung besser, dann wieder schlechter, in letzter Zeit ist auch diese Hyphoskoliose schlimmer geworden, Patientin hält sich nach vorn und nach links gebeugt und kann die Hände nicht mehr in die Höhe strecken. Husten und Auswurf haben nicht bestanden. Appetit und Schlaf befriedigend. Seit 1897 hat Patientin Jodkalium erhalten. Von dem am 21. März 1900 erhobenen Befund sei Folgendes angeführt: Mittelgrosse Frau, blass, sehr stark abgemagert. Ganz nach vorn links gebeugt. Fossa supraclav. dextr. brettharte Infiltration, Haut geröthet, schuppend, mit zahlreichen Fisteln und Borken bedeckt; eine weitere Fistel in der rechten Axilla. Lungenbefund normal. Herzbefund: Mitralinsufficienz. Eine ausgedehnte brettharte Infiltration streckt sich auf beiden Seiten der Wirbelsäule vom Tuber ischii bis etwa zur Höhe der Scapulae; die Haut dieses ganzen Theiles des Rückens ist braunroth; die Infiltration dehnt sich rechts zungenförmig in die Bauchgegend weiter aus, woselbst ein grosser aktinomykotischer Abscess liegt. Fisteln sind sowohl in der angeführten Zone als auch weiter oben links, an der nicht veränderten Haut zwischen Wirbelsäule und Scapulawand. Die Drüsen sind nicht empfindlich und auch nicht vergrössert. Im Abdomen sind neben einer mächtigen Diastase der Recti und einer enormen asymmetrischen Vorwölbung des Leibes keine Veränderungen an den Organen zu beobachten. Der Urin enthält eine minimale Spur Eiweiss, aber keinen Zucker und keine geformten Bestandtheile. Stuhl normal. Patientin ist psychisch sehr deprimirt, und ist durch das Leiden eine Morphistin geworden; sie nimmt 0·4 Morphium per os in 2 bis 3 Tagen. Im Eiter sind Drusen gelbgrünlich, von miliarer oder submiliarer Grösse; mikroskopisch sind die Drusen mit deutlichen Endkolben zu erkennen. Ende März entleert sich der grosse Abscess am Bauch, Anfangs Mai entsteht ein neuer, kleiner Abscess in der rechten Axilla, der am 11. Mai wie die übrigen spontan entleert wird. Der Zustand bleibt ziemlich gleich, fast immer entleeren einzelne Gänge Eiter mit deutlichen Drüsen. Im September tritt eine neue Infiltration in der linken Halsseite auf, in Folge dessen kann der Kopf nur geringe Excursionen machen. Unter andauernden grossen Dosen Jodkalium, 10·0 pro Woche, ist die brettharte Infiltration ganz bedeutend zurückgegangen und ist eine partielle Besserung unverkennbar. Einzelne Fisteln entleeren noch immer Eiter mit vielen neutrophilen Leukocyten, grossen Fettkörnchenkugeln und typischen Drusen. Im November starb die Patientin, welche regelmässig besucht worden war, ohne dass die Poliklinik davon benachrichtigt worden wäre, und es blieb daher leider die Section aus.

Bakteriologische Untersuchung. Die ersten Eiterproben im Frühjahr 1900 wurden von der Patientin, welche kein Instrument mehr duldete, in Reagirgläsern aufgefangen; Drusen und Eiterkörperchen waren darin leicht



nachweisbar; es gelang aber, wegen der Unmasse von Kokken, die Isolirung in den Culturen nicht. Am 11. Mai konnte ich aus einem Fistelgange mittelst steriler Pipette, aber ohne vorherige Reinigung der Haut, etwas Eiter aspiriren und die mit demselben angelegten directen Culturen waren rein.

Bei der directen Untersuchung im ungefärbten Zustande sind die Keulen oft leicht zu erkennen. Noch besser gelingt der Nachweis in gefärbten Schnittpräparaten von in Paraffin eingebetteten Drusen. In einem von Herrn Dr. Nägeli angefertigten Präparate sind die radiär angeordneten violett gefärbten Fäden, welche theilweise noch über die rothen Kolben hinaus ragen, sehr deutlich zu erkennen (Taf. IV, Fig. 5). Im Ausstrichpräparate sind die Fäden verschieden lang, unregelmässig gefärbt, namentlich in Klatschpräparaten radiär angeordnet mit deutlichen kolbigen Endanschwellungen. Daneben sind kürzere Formen, Diphtheriebacillen ähnlich, in Haufen oder auch vereinzelt.

Culturen. Die zwei mit dem frisch, aber ohne besondere Vorsichtsmaassregeln entnommenen Eiter angelegten flüssig geimpften und dann zum Erstarren gebrachten Agarculturen zeigten nach einigen Tagen in der Tiefe grauweissliche, etwas unregelmässige, drusenartig aussehende, kleine stecknadelkopfgrosse Colonieen, welche beim Ueberimpfen oder beim Ausstreichen den schon früher erwähnten typisch unangenehmen Geruch erkennen liessen. An der Oberfläche des Agar kam es nicht zur Weiterentwickelung. Auf einer Agarstrichcultur, welche 14 Tage lang anaërob bei Bruttemperatur gestanden hatte, erscheinen die aus Bouillon überimpfen Stückchen vielleicht etwas vergrössert, jedenfalls war aber auch hier die Entwickelung kaum zu erkennen; in der Tiefe des Condenswassers waren kleine Colonieen, ähnlich wie in der Bouillon zu sehen.

Die ersten Ueberimpfungen in aërober Bouillon entwickelten sich nicht weiter, währenddem in Zuckerbouillon mit Schwefelnatriumzusatz das Wachsthum gut vor sich ging. Die Bouillon blieb klar, eine Kahmhaut wurde niemals beobachtet, die Colonieen waren stets am Boden des Gefässes in Form eines Bodensatzes. Im Gegensatze zu den früheren Fällen war der Bodensatz Anfangs schleimig, fadenziehend, ohne dass einzelne Körner oder Colonieen hätten unterschieden werden können; später war die Ähnlichkeit mit den anderen Fällen grösser und es kam auch hier zur Bildung von einem Conglomerat von Kügelchen. Die späteren Ueberimpfungen zeigten auch Entwickelung in gewöhnlicher aërober Bouillon, stets aber war das Wachsthum bei Zusatz von Schwefelnatrium üppiger.

In den Zucker-Agarröhrchen wurde allerdings nur einige Male eine spärliche Gasbildung beobachtet. Die Grösse der Colonieen in Agar war verschieden je nach der Menge des geimpften Materials, von Punkt- bis Stecknadelkopfgrösse. Stets war die oberste, etwa 3 ^{mm} hohe Schicht frei, darunter waren die Colonieen sehr dicht neben einander und in der Tiefe waren dieselben wiederum etwas spärlicher. Ein Verschmelzen verschiedener Colonieen wurde nicht beobachtet; auch die grösseren Colonieen waren nicht fest mit dem Nährboden verwachsen. Die Sticheultur in Agar wies keine besonderen Merkmale auf: die einzelnen verschieden grossen Colonieen, manchmal in Form eines trüben Streifens verlaufend, zeigten keine Ausläufer. Die Oberflächencultur auf Agar im Vacuum aufbewahrt zeigte nach einigen



Tagen, aber nur im Condenswasser und darunter kleine deutlich isolirte etwas unregelmässig aussehende Colonieen (Taf. III, Fig. 5). Auf dem Agar wurde keine Entwickelung beobachtet.

In Gelatine bei 22° C. kein Wachsthum.

Auf der Kartoffel konnte eine Entwickelung nicht festgestellt werden, ebensowenig in der Milch.

Die mikroskopische Untersuchung der Culturen bot wiederum ein mannigfaltiges Bild dar. In Agar sind Stäbchen und nicht sehr lange, mehr oder weniger gewundene Fäden im Ausstrichpräparate vorhanden. Die Fäden sind mit Methylenblau gleichmässig gefärbt, erscheinen in einem aus derselben Cultur stammenden Carbolfuchsinpräparat mehr streptokokkenartig; die Dicke der Fäden ist auch verschieden, meist erscheinen dieselben sehr dünn, noch dünner als Tuberkelbacillen. Die kurzen Formen sind meist schlank, wiederum Diphtheriebacillen ähnlich; in einem Klatschpräparat aus einer tiefen 10 tägigen Colonie in Agar sind die Stäbchen parallel, staketenartig in Gruppen angeordnet (Taf. IV, Fig. 6). Die Bacillen sind nicht haarlockenartig oder gewunden wie Milzbrandbacillen oder wie Streptokokken; die einzelnen Gruppen parallel gelagerter Stäbchen stehen vielmehr unter verschiedenen Winkeln zu einander. Verzweigungen und kolbige Anschwellungen sind nur spärlich. In Bouillon sind die kurzen Formen häufig in Winkelstellung oder rosettenartig gelagert überwiegend; die längeren Fäden sind viel seltener.

Thierversuche, welche mit verschiedenen Culturen an Kaninchen und an Meerschweinchen vorgenommen worden waren, lieferten ein negatives Resultat. Die einen Thiere wurden nach 5 und nach 7 Tagen getödtet, andere längere Zeit beobachtet; bei keinem konnten Veränderungen festgestellt werden.

Nachtrag. Seit Abschluss dieser Arbeit hatte ich Gelegenheit, sechs weitere Fälle von Aktinomykose beim Menschen bakteriologisch zu untersuchen und zwar einen vierten Fall von Aktinomykose des unteren Thränencanälchens bei einer Frau und fünf Fälle von Aktinomykose des Oberkiefers (zwei Mal wurde die klinische Diagnose nur auf Paruhis gestellt, da keine Drusen im Eiter nachweisbar waren). Die mikroskopische und culturelle Untersuchung lieferte im Grossen und Ganzen mit den Mitgetheilten übereinstimmende Resultate. In einem Falle von Aktinomykose der Wange traten auch auf der Oberfläche der aëroben Agarstrichcultur kleine Colonieen auf. Diese Colonieen zeigten nach 14 Tagen eine sehr grosse Aehnlichkeit mit Colonieen von Diphtheriebacillen: grob körnige Beschaffenheit, dichtes Centrum und hellere Peripherie; allerdings war die Entwickelung langsamer und das Aussehen der Serumcultur verschieden.

IV. Untersuchungen von 2 Fällen von Aktinomykose beim Rinde.

Im Laufe des letzten Jahres habe ich mich bemüht, eine grössere Anzahl von Fällen von Aktinomykose beim Rindvieh zu untersuchen. Ich konnte nur vier Mal aus dem hiesigen Schlachthofe aktinomykotisch veränderte Organe erhalten.



Im ersten Falle handelte es sich um eine Aktinomykose des Unterkiefers; auf der Schnittfläche waren die charakteristischen Herde mit den typisch gelben Drusen vorhanden. Es gelang der Nachweis der Keulen sowohl im ungefärbten Präparate des Eiters als auch in Schnittpräparaten von in Paraffin eingebetteten Drusen. Im Inneren der Druse bildeten die Fäden ein verfilztes Maschwerk ohne typische radiäre Anordnung. Die Merkmale im ausgestrichenen Präparate entsprachen den weiter oben geschilderten: verschieden lange, ungleichmässig gefärbte, nach Gram nicht entfärbte Fäden und Stäbchen.

Die Isolirung des Mikroorganismus gelang in den Culturen, welche mit dem aus der Tiefe steril entnommenen Drusen angelegt worden waren, ohne Schwierigkeit. Die Merkmale der Colonieen in Agar (Taf. III, Fig. 3) und in Bouillon entsprechen den wiederholt gemachten Beschreibungen; die Culturen wurden gleichzeitig und parallel verfolgt mit denjenigen der Fälle 5 und 7 und die dort angeführten Eigenschaften kann ich hier wiederholen (Taf. III, Fig. 9). Betont sei, dass das Wachsthum niemals üppig war, und dass die Culturen in Bouillon mehr staubartig und nicht schleimig aussahen. Oberflächenwachsthum auf Agar und auf Blutserum wurde nicht beobachtet, sondern stets die Entwickelung in der Tiefe von Agar und am Boden der Bouillonröhrchen. Während der Ferien starben die Culturen ab, und wiederholte Ueberimpfungsversuche blieben erfolglos.

Die Thierversuche lieferten ein negatives Resultat.

2 weitere Fälle von Aktinomykose des Unterkiefers lieferten ein ähnliches Resultat, mikroskopisch und culturell. In dem einen Fall war die Entwickelung in der aëroben Agarstrichcultur sehr hübsch: kein Wachsthum an der Oberfläche, hingegen zahlreiche kleinste Colonieen im Condensraum und darunter auf dem Agar, an der Wand des Glases.

Der hier isolirte Mikroorganismus entspricht den in den Fällen 5, 6 u. 7 beim Menschen gefundenen und darf wohl auch als der Krankheitserreger angesprochen werden.

Der 4. Fall betraf eine Aktinomykose der Zunge an der bei Rindern wohlbekannten Prädilectionsstelle, an dem Zungenwulst. An der Oberfläche waren wie gewöhnlich nur einige inselförmige Epitheldefekte sichtbar; auf dem Querschnitte liessen sich aber die typischen Herde schon makroskopisch erkennen. Es wurden auch einige, allerdings nicht zahlreiche, Drusen mit typischem Bau, wie dies im gefärbten Schnittpräparate zu sehen war, nachgewiesen. Im Gegensatze zu dem ersten Falle waren die Fäden im directen Ausstrichpräparat nicht deutlich sichtbar. Die mit den Drusen angelegten Culturen lieferten keine anaëroben Colonieen, sondern aërob wachsende, diphthereiähnliche Bacillen. Die Eigenschaften des isolirten Mikroorganismus entsprechen ziemlich denjenigen der so verbreiteten sogenannten Pseudodiphtheriebacillen. Ich hätte den gefundenen Mikroorganismus als eine zufällige Verunreinigung gehalten (das excidirte Zungenstück war schon mehr als 24 Stunden lang gelegen, vordem die Culturen angelegt werden konnten), wenn mich der Thierversuch nicht etwas befremdet hätte. Fünf Tage nach intraperitonealer Injection einer Reincultur wurde bei einem Meerschweinchen Eiterbildung am Omentum mit demselben Mikro-



organismus im Eiter und auch in den Culturen gefunden; der Eiterherd ist am Omentum localisirt. Das Thier war nicht krank.

Ohne diesen Befund als beweisend für die Specificität des fraglichen Mikroorganismus betrachten zu wollen, führe ich denselben hier an, da mir eine ähnliche Beobachtung bei Versuchen mit Pseudodiphtheriebacillen aus dem Rachen nicht bekannt ist.

Von den 8 isolirten und genauer untersuchten Mikroorganismen können wir vor allem den im Falle 3 gefundenen abtrennen, da sich derselbe durch die culturellen Merkmale von den übrigen leicht und sicher unterscheiden lässt. Ein zweiter aus dem Thränencanälchen stammender Aktinomyces (Fall 4) zeichnet sich durch längere meist verfilzte Fäden und durch einige culturelle Unterschiede aus, währenddem die Culturen der 6 übrigen Fälle (1, 2, 5, 6, 7 und Act. bovis) eine grössere Aehnlichkeit zeigten.

Kein einziger der isolirten Krankheitserreger entspricht in seinem morphologischen Verhalten dem von Boström[1] als dem alleinigen Erreger der Aktinomykose beim Menschen und beim Thiere genau beschriebenen Fadenpilz.

Eine grössere Aehnlichkeit besteht mit dem von Wolf und Israël[2] beschriebenen Aktinomyces, obschon auch hier namentlich in den Culturen mannigfaltige Unterschiede aufgezählt werden könnten, so dass wir die beschriebenen Arten nicht ohne Weiteres identificiren dürfen.

Der klinische Verlauf unserer 7 Fälle beim Menschen ist ein sehr verschiedenartiger. Die Concremente im unteren Thränencanälchen riefen bei den Patientinnen keine weitere Störung des Allgemeinbefindens hervor, die Entfernung derselben wurde nur wegen der lokalen Beschwerden gewünscht und die vollständige Heilung war nach dem einfachen Aufschlitzen des Thränencanälchens erreicht. Die 2 Fälle von Aktinomykose des Oberkiefers bezw. des Mundbodens waren schwerere; der progrediente Charakter liess sich namentlich beim ersteren erkennen und die Heilung erfolgte erst allmählich, nach mehreren operativen Eingriffen. In den zwei übrigen Fällen (1 und 7) dürfen wir annehmen, dass die mykotische Infection den lätalen Ausgang bedingt hat. Trotz dem grossen Unterschiede in der Schwere der Erkrankung hat uns die bakteriologische Untersuchung zur Annahme geführt, dass wenigstens fünf der gefundenen Mikroorganismen (Fall 1, 2, 5, 6 und 7) in ihrem morphologischen und

---

[1] A. a. O.

[2] Virchow's *Archiv.* Bd. CXXVI.



biologischen Verhalten sehr ähnlich sind. Dass ein und derselbe Mikroorganismus je nach der Art der Infection ganz verschiedene Erkrankungen erzeugen kann, ist wohl zur Genüge bekannt. Die Localisation, die individuelle Prädisposition und wahrscheinlich noch viele andere Factoren spielen dabei eine wichtige Rolle.

Ist die klinische Diagnose Aktinomykose gerechtfertigt? Für die 3 Fälle der dritten Gruppe (5, 6 und 7) darf diese Frage ohne Weiteres bejaht werden; in diesen Fällen wurde übrigens von Seite der behandelnden Aerzte die Diagnose Aktinomykose gestellt.

Bei Gelegenheit der Veröffentlichung des Untersuchungsergebnisses der zwei ersten Fälle von Concrementen im unteren Thränencanälchen hatte ich mich gegen die Diagnose Aktinomykose ausgesprochen. Meine weiteren Untersuchungen haben mich zur Aenderung meiner Ansicht geführt, indem ich zur Ueberzeugung gekommen bin, dass die Bezeichnung Aktinomykose sowohl vom Kliniker als vom pathologischen Anatomen für Erkrankungen, welche durch verschiedene Mikroorganismen bedingt sind, angewandt wird. Die Diagnose wird meist auf Grund der directen mikroskopischen Untersuchung gestellt und dabei ist es unmöglich, die einzelnen in Betracht kommenden Krankheitserreger zu differenciren und zu erkennen.

Vordem wir auf diese Ergebnisse der mitgetheilten Untersuchungen näher eingehen, möchte ich einige Angaben aus der Litteratur anführen.

In den Lehrbüchern der Allgemeinen Chirurgie wird die bakteriologische Seite der Aktinomykose meist nur kurz berührt; wir finden Abbildungen nach dem einen oder dem anderen Autor (Boström, Ponfick, Wolff und Israël u. s. w.) und die Angabe[1], dass der Aktinomyces je nach der Art des Nährbodens und dem Fehlen oder Vorhandensein von Sauerstoff in verschiedener Weise wächst.

In der ausführlichen Abhandlung von v. Korányi über die Strahlenpilzkrankheit[2] wird auch nur die Beschreibung der Culturen nach Boström angegeben und im Anhang dem von Wolff und Israël beschriebenen Mikroorganismus eine selbstständige Stellung abgesprochen; hingegen wird der von Eppinger beschriebene Aktinomyces (Cladothrix) asteroides als besondere Art angeführt, ebenso der von Vincent gezüchtete Erreger des Madura fussess.

In neuerer Zeit haben einige Autoren Fälle von Aktinomykose beim Menschen genauer bakteriologisch untersucht und häufig anaërob wachsende Mikroorganismen gefunden. Hier seien nur einige Resultate mitgetheilt.

[1] Tillmanns, *Allgemeine Chirurgie.* 1897. S. 388.

[2] *Specielle Pathologie und Therapie* von Nothnagel. Bd. V. Zoonosen S. 80.



Ausführliche Litteraturangaben sind u. a. in den Monographieen von Poncet et Bérard, von Lachner-Sandoval und in den verschiedenen Referaten von Eppinger und von Schlegel in den Jahresberichten von Lubarsch und von Ostertag enthalten.

Hesse[1] fand in einem Falle von Fistel ausgehend von einem geheilten Darmgeschwür einen Mikroorganismus, den er von den früher beschriebenen unterscheidet und als Cladothrix liqnefaciens benennt. Einen ähnlichen Mikroorganismus züchtete Karp in zwei von Dims[2] beschriebenen Fällen.

Eine mit Fall I zu vergleichende Beobachtung hat Garten[3] veröffentlicht. Er fand einen Fadenpilz, der aërob gedieh und namentlich durch das schnellere Wachsthum und durch die rasche Verflüssigung der Gelatine, ferner durch das Fehlen der Keulenbildung im Eiter von dem typischen Aktinomyces verschieden ist.

Die Arbeit von Buchholtz habe ich schon weiter oben angeführt. Levy[4], der sich eingehend mit dem Studium der Aktinomyceten befasst hat, fand in 5 Fällen von Aktinomykose denselben Strahlenpilz wie Wolff und Israël, nur war sein Mikroorganismus streng anaërob und wollte sich der aëroben Lebensweise nicht anbequemen. Auf Grund seiner Untersuchungen schreibt Levy dem anaëroben Aktinomyces eine wichtige Rolle bei der Aetiologie der menschlichen Aktinomykose zu und betrachtet die aërobe und die anaërobe Art als nahe verwandt.

In einem Falle von Aktinomykose der Bauchdecken fand Bruns[5] einen Mikroorganismus, welcher am üppigsten aërob auf Agar gedieh, in den ersten Culturen faden- später mehr stäbchenförmige Gebilde zeigte, und welche Bruns als eine Zwischenform zwischen dem aëroben und dem von Wolff und Israël beschriebenen anaëroben Strahlenpilz ansieht. Er hält es für richtig beim Vorhandensein von Körnchen die strahlenartige Fäden mit Keulen bergen, in einem klinisch auch sonst als Aktinomykose charakterisirten Falle von Strahlenpilzkrankheit zu sprechen.

Krause[6] beschreibt einen Fall von Abscess am Unterkiefer; im Eiter fand er einen Mikroorganismus, welche nicht mit dem Boström'schen und auch nicht ganz mit dem von Wolff und Israël beschriebenen übereinstimmte. Nach der kurzen Beschreibung ist eine Identificirung mit einer der von uns gefundenen Arten nicht möglich.

---

[1] *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie.* Bd. XXXIV.
[2] Citirt nach Eppinger in Lubarsch und Ostertag. 1896. S. 352.
[3] *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie.* Bd. XLI. S. 257.
[4] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVI. S. 1.
[5] *Ebenda.* Bd. XXVI. S. 11.
[6] *Ebenda.* Bd. XXVI. S. 209.



In letzter Zeit hat Sternberg[1] einen den unserigen jedenfalls sehr ähnlichen Strahlenpilz beschrieben, den er in drei Fällen von Aktinomykose beim Menschen angetroffen hat. Dieser aërob und anaërob in Zuckerbouillon wachsende Mikroorganismus konnte auf der Agaroberfläche nicht gezüchtet werden; bei Kaninchen wurde Abscessbildung oder Infiltration an der Injectionsstelle beobachtet, niemals aber typische Drusenbildung. Sternberg kommt zum Schlusse, dass der menschlichen Aktinomykose mindestens zwei in ihrem culturellen und ihrem biologischen Verhalten verschiedene Pilze zu Grunde liegen, welche klinisch und anatomisch ein vollkommen identisches Krankheitsbild erzeugen.

In einer ausführlichen Monographie[2] über Aktinomykose und in seiner Arbeit über Pseudoaktinomykose[3] unterscheidet Berestnew auf Grund eingehender bakteriologischer Untersuchungen typische, atypische Aktinomykose und Pseudoaktinomykose. Die Fälle von Pseudoaktinomykose werden wiederum unterschieden je nach ihrem Verhalten gegenüber der Entfärbung nach Gram. Berestnew betont auch, dass die Diagnosestellung nur mittelst ausgiebiger bakteriologischer Untersuchung möglich ist. In zwei von den Fällen von sogenannter Pseudoaktinomykose wurden Mikroorganismen gefunden, welche mit den unserigen eine grosse Aehnlichkeit haben. Auf Grund der morphologischen und der culturellen Merkmale seiner Bakterien reiht Berestnew dieselben den Bakterien und nicht den Strahlenpilzen ein.

In der grossen Monographie von Poncet und Bérard[4] finden wir die Angabe, dass für den Kliniker die feinen Unterscheidungsmerkmale zwischen den einzelnen Aktinomyceten keine Bedeutung haben; trotzdem stellen die Verfasser[5] in einer Tabelle die Unterschiede zwischen Aktinomykose und Pseudoaktinomykose zusammen. Da finden wir folgende Unterscheidungsmerkmale angeführt:

1. bei Aktinomykose besteht das Mycel aus haarförmigen radiär angeordneten Fäden mit zahlreichen peripheren Keulen, — bei Pseudoaktinomykose ist das Mycel mehr verflochten, nicht radiär angeordnet, die Verzweigungen sind seltener und die „Sporen“ leicht färbbar, ferner wird die Aehnlichkeit mit Leptothrinx angegeben;

2. in den Culturen lässt sich der Aktinomycespilz schwerer züchten, zuerst wächst er anaërob und erst später aërob, — bei Pseudoaktinomykose ist das Wachsthum von Anfang an üppiger, im mikroskopischen Prä-

[1] *Wiener klin. Wochenschrift.* 1900. S. 548.

[2] *Dissertation.* Moskau 1897.

[3] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIX. S. 94.

[4] *Traité clinique de l'actinomycose humaine.* Paris 1898.

[5] A. a. O. S. 343.



parat sind meist diphtheriebacillenartige Gebilde, hingegen weder Körnchen noch lange Fäden.

Vergleichen wir unsere oben angeführten Befunde mit den hier kurz mitgetheilten Angaben, so kommen wir zum Resultate, dass in keinem einzigen Falle eine bestimmte Diagnose gestellt werden kann, da einige Merkmale für Aktinomykose, andere für Pseudoaktinomykose sprechen würden. Es darf daher der Werth der Unterscheidungsmerkmale nicht sehr hoch angeschlagen werden; Poncet und Bérard geben übrigens selber zu, dass die Differentialdiagnose zwischen beiden Affectionen sehr schwierig sei. In seinem Referate über Aktinomykose bei Menschen und bei Thieren in dem 1900 erschienenen Jahresberichte von Lubarsch und Ostertag (für das Jahr 1898) erwähnt Schlegel[1] eigentlich nur die Boström'schen Angaben und befasst sich kaum mit der Differentialdiagnose, obschon sich Eppinger[2] 2 Jahre früher in demselben Werke dahin ausgesprochen hatte, dass es verschiedene Arten von Aktinomycespilzen giebt.

Fragen wir uns, welchen Unterschied die einzelnen Autoren zwischen Aktinomykose und Pseudoaktinomykose machen, so gelangen wir bald zur Ueberzeugung, dass heutzutage kein einziges Merkmal angeführt werden kann, welches eine bestimmte Differentialdiagnose zulässt. Bekanntlich führt in den meisten Fällen die Entdeckung der Drusen im Eiter oder im Wundsecret zur Diagnose Aktinomykose. Die Diagnose Aktinomykose wird gestellt auf Grund der directen makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung; die Diagnose Pseudoaktinomykose rührt in der Regel von den culturell weiter verfolgten Fällen her. Auffallend ist in dieser Beziehung die relativ grosse Anzahl der Fälle von Pseudoaktinomykose im Vergleich zu den culturell festgestellten Fällen von typischer Aktinomykose. Auch in Bezug auf Deutung des bakteriologischen Befundes verhalten sich die einzelnen Autoren verschieden, indem die einen in Anbetracht des Pleomorphismus der ganzen Familie trotz gewissen Unterscheidungsmerkmalen zwei oder mehrere Mikroorganismen identificiren, währenddem andere sich leichter entschlossen, neue Arten aufzustellen.

Betrachten wir in aller Kürze die Merkmale, welche bei einer Untersuchung auf Aktinomykose von Bedeutung sind.

Vor allem sind die typischen Drusen zu erwähnen. In vielen Fällen ist es dasjenige Merkmal, welches allein zur Diagnose führt. Die Drusen sind in den einzelnen Fällen verschieden; die ersten Autoren,

[1] Jahrgang 1898. S. 403.

[2] Lubarsch und Ostertag, *Jahresbericht.* 1896. S. 351.

welche sich mit pathologischen Untersuchungen über Aktinomykose befasst haben, haben schon den Pleomorphismus der Drusen in Bezug auf Form, Grösse, Farbe hervorgehoben und waren geneigt, verschiedene Arten aufzustellen. Die Beobachtung von **Weigert** und von **Langhans**, welche ein **Weiterwachsen der Drusen** ausserhalb des Organismus gesehen haben, konnte ich namentlich im Falle 1 bestätigen; es waren weder von den behandelnden Aerzten noch von mir bei der Untersuchung des frischen Eiters Körnchen beobachtet worden; dieselben traten erst nach Wochen im steril unter Luftabschluss aufbewahrten Materiale auf und zwar im Eiter der verschiedenen Krankheitsherde. Gestützt auf diese Beobachtung, welche mit dem von anderen Autoren angeführten übereinstimmt, dürfen wir die Vermuthung aussprechen, dass es **Fälle von Aktinomykose giebt ohne makroskopisch sichtbare Drusen**. Solche Fälle können erst bei genauer mikroskopischer und cultureller Untersuchung festgestellt werden. — In Bezug auf das **mikroskopische Aussehen der Drusen** sind bekanntlich die Befunde noch mannigfaltiger; von den meisten Autoren werden heutzutage noch die endständigen Keulen als charakteristisch angesehen. Wir wissen aber, dass in vielen Fällen diese hellen Gebilde gar nicht oder nur vereinzelt angetroffen werden. Die Annahme, dass die Keulen für die Diagnose Aktinomykose erforderlich sind, ist namentlich durch die Untersuchungen von **Babes** und **Levaditi**[1] und **Lubarsch**[2] hinfällig geworden, welche den Nachweis erbrachten, dass die früher ausschliesslich bei Aktinomykose beschriebenen Gebilde auch experimentell bei Thieren mit verschiedenen Tuberkelbacillen und mit anderen Streptothricheen erzeugt werden können. Wir dürfen somit annehmen, dass die **Keulenbildung nicht ausschliesslich bei einem einzigen Krankheitserreger vorkommt** und dass andererseits **Aktinomycesdrusen ohne Keulen auftreten können**. Die Ansicht der Nichtspecifität der Keulen lässt sich sehr gut erklären durch die schon von **Boström** ausgesprochene Anschauung, wonach die Kolbenbildung im Wesentlichen auf eine Quellung der Pilzfädenmembran zurückzuführen wäre. Wir werden weiter unten diese Frage nochmals berühren.

Die Hauptsache ist das **Studium des eigentlichen Krankheitserregers** der im Innern der Drusen radiär angeordneten oder der verfilzten Fäden. Anordnung, Form und Färbbarkeit dieser Gebilde sind verschieden; die einzelnen Entwickelungsstufen der Druse kann man manchmal in Schnittpräparaten von Eiterklümpchen verfolgen. Die Entwickelung und die Mannigfaltigkeit der Fäden in den Drusen ist von

[1] *Arch. de méd. expér.* 1898.
[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXI.

Boström u. A. eingehend an Schnittpräparaten erläutert worden. Hingegen sind die Befunde bei Untersuchung der gewöhnlichen directen Ausstrichpräparate aus dem Eiter noch nicht so eingehend gewürdigt worden. In vielen Fällen gelingt es, die Drusen im directen ungefärbten Klatschpräparat zu erkennen und dieselben histologisch zu studiren. Andere Male sind aber die Drusen nicht deutlich oder, was häufig vorkommt, das Bild des ungefärbten Präparates nicht sicher zu deuten und das zur Verfügung stehende Material zu spärlich, um gleichzeitig Schnitte und Culturen anlegen zu können. Ein negativer Befund im ungefärbten Klatschpräparate ist nicht beweisend. Der wenig Erfahrene wird den Befund der gefärbten Präparate nicht immer beurtheilen können. Wir müssen hier daran erinnern, dass die Fäden bei Aktinomykose schwer und oft unregelmässig färbbar sind, und dass die Anordnung in Folge des Ausstreichens keine charakteristische mehr ist. Die einfach mit Methylenblau gefärbten Präparate liefern oft negative Resultate, da die feinen Fäden nicht zu erkennen sind. Etwas besser gelingt die Färbung mit Fuchsin oder mit Gentianaviolett, allein die Unterscheidung zwischen dem Aktinomyces und den ähnlich gefärbten Fibrinfäden ist manchmal schwer. Daher ist die Doppelfärbung mit Gentianaviolett und Eosin oder mit einer anderen rothen diffus färbenden Lösung anzuempfehlen unter Anwendung der Entfärbung nach Gram oder nach Weigert. Die Entfärbung darf weder zu schwach noch zu stark sein; gewisse Fäden ertragen eine längere Behandlung mit Alkohol nicht. In Uebereinstimmung mit anderen Autoren würde ich daher die Entfärbung mit Anilinöl vorziehen. In den doppelt gefärbten Präparaten finden wir die Fäden gleichmässig oder aber ganz unregelmässig gefärbt, so dass dieselben beim ersten Blick gar nicht als Fäden, sondern entweder als Farbstoffniederschläge an den dichteren Stellen oder, bei dünner Ausbreitung, als Streptokokken angesprochen werden; allerdings fällt es bei näherer Betrachtung auf, dass die einzelnen Kokken ungleich sind, dass die Contouren nicht immer gleich scharf erscheinen, dass in einer und derselben Kette die Glieder ganz verschieden aussehen können, aber ähnliche Befunde sind in Culturen von Streptokokken, namentlich aus der Mundhöhle nicht selten. Es erscheint mir nicht als ausgeschlossen, dass eine solche Verwechselung von Aktinomycesfäden mit Streptokokken in Ausstrichpräparaten von Eiter vorgekommen ist, namentlich wenn die weitere culturelle Untersuchung ausblieb.

Neben diesen langen Formen, welche häufig aber doch nicht immer gefunden werden, trifft man kurze, stäbchenartige Gebilde, welche sich wiederum durch ihren Pleomorphismus auszeichnen: die einen sind kurz, kokken- oder coccobacillenähnlich, andere stellen kürzere oder längere oft



zugespitzte schlanke Bacillen dar, gerade oder gewunden, mit oder ohne Verzweigungen. Diese Stäbchen sind entweder in Haufen oder parallel oder in Winkelstellung, wie Diphtheriebacillen, angeordnet, manchmal auch vereinzelt.

Es wird wohl mancher Forscher bei der directen Untersuchung von Aktinomykose-Eiter ausser Fäden auch Kokken und Bacillen diagnosticirt und erst später erkannt haben, dass die verschiedenen Gebilde einem und demselben Mikroorganismus angehören. Die Annahme, dass es sich um Bakterien handeln könnte, welche in der Cultur nicht zur Entwickelung gelangen, wird dadurch widerlegt, dass in den Culturen neben den langen auch die kurzen Gebilde mikroskopisch nachweisbar sind, dass in gewissen Fällen nur wenige oder gar keine Fäden, in anderen fast keine kurzen Formen vorkommen. Aus diesen Auseinandersetzungen geht hervor, dass man bei Untersuchungen auf Aktinomykose den Pleomorphismus des Krankheitserregers stets berücksichtigen muss.

Hier und da kommt es vor, dass der Nachweis von Aktinomyces im Eiter oder in dem ausgekratzten Materiale nicht gelingt; in solchen Fällen führt eine erneute Untersuchung häufig zum Ziele. Im Falle 6 konnte ich bei der ersten Untersuchung nichts finden; in dem beim ersten Verbandwechsel entnommenen Eiter waren hingegen viele typische Mikroorganismen. Es braucht wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden, dass das Auffinden der Drusen nicht immer leicht ist.

Wir wissen, dass die Fäden auf künstlichen Nährböden weiter gezüchtet werden können. Die Angabe von Boström, dass man eine recht grosse Anzahl von Culturen in jedem Falle anlegen müsse, um Aussicht auf Erfolge zu gewinnen, stimmt nicht in allen Fällen. Es ist mir wiederholt gelungen, in der ersten Bouillon oder in der ersten flüssig geimpften und dann erstarrten Agarcultur eine Reincultur zu erhalten. Bei dieser Gelegenheit möchte ich noch besonders hervorheben, dass Mischinfectionen beim Menschen nach meinen Erfahrungen nicht die Regel sind. Ich habe beispielsweise im Falle 7 ohne vorherige sorgfältige Reinigung (wegen des Widerwillens der Patientin) aus einer engen Fistel Eiter in eine sterile Pipette aspirirt und sofort eine Reincultur erhalten. Aehnlich ist es mir bei einer schon 3 Jahre lang dauernden Erkrankung in den Fällen 1, 2, 3 (obschon das untere Thränencanälchen der Infection von aussen ausgesetzt ist) und 5 gelungen, währenddem namentlich im Falle 4 auch Kokken in den Culturen zur Entwickelung kamen. In den von mir untersuchten Fällen war somit die Reincultur meist sofort zu erhalten. Allerdings muss ich als besonders wichtig hervorheben, dass der bei der Operation entleerte Eiter gewöhnlich sofort zur Anlegung der Culturen verwendet wurde. Bei älteren offenen Processen ist, namentlich



wenn die gewöhnlichen Eiterkokken in übergrosser Zahl vorhanden sind, eine Isolirung des Aktinomyces äusserst schwierig. Uebrigens beruht die Angabe, dass Mischinfection häufig vorkomme, vielleicht, wie weiter oben auseinandergesetzt wird, auf falscher Deutung des Befundes, indem die im Ausstrichpräparat des Eiters angetroffenen kurzen Formen als Kokken gedeutet werden. Für die Anlegung der Culturen würde ich nach meinen Erfahrungen folgendes Verfahren anempfehlen. Das Material wird steril aufgefangen mittels Aspiration in sterile Pipetten oder bei der Operation in sterile Doppelschälchen. Sind bei der mikroskopischen Untersuchung die Drusen als solche erkannt worden, so werden dieselben mit dem Platindraht überimpft und im Röhrchen zerdrückt und aufgeschwemmt. Als Nährböden wurden hauptsächlich Agar (Glycerin oder 1 Procent Traubenzuckeragar) und Bouillon verwendet (vorzugsweise 1 Procent Traubenzuckerbouillon, eventuell mit Zusatz von 10 Tropfen 1 proc. Lösung von Schwefelnatrium pro Röhrchen); daneben Blutserum, Gelatine oder Kartoffel. Die Isolirung ist mir stets mit Agar und mit Bouillon gelungen. Es wurden aërobe und anaërobe Culturen angelegt, und zwar Agarstrich, Agar nach Liborius (flüssig geimpft und dann erstarrt); in der Bouillon entwickelten sich die Culturen namentlich gut anaërob in Pipetten, welche mit der Wasserstrahlpumpe luftleer gemacht und zugeschmolzen worden waren. Hier und da war von Anfang an in der Tiefe der gewöhnlichen aëroben Bouillonröhrchen ebenfalls deutliches Wachsthum wahrnehmbar.

In den meisten Fällen genügten etwa 10 Röhrchen, um eine Isolirung des betreffenden Mikroorganismus zu erreichen.

Ist der Eiter inficirt oder nicht steril aufgefangen, so sind eine Anzahl Verdünnungen erforderlich (auch hier eignet sich in erster Linie Agar); die Isolirung gelingt in solchen Fällen nur schwer, und es müssen eine grosse Anzahl von Colonieen genau untersucht und eventuell überimpft werden.

Es erscheint mir verfrüht, auf Grund der bis jetzt vorliegenden Mittheilungen eine definitive Eintheilung der pathogenen Arten des Genus Aktinomyces vorzunehmen. Obschon die Bezeichnung Aktinomyces den grossen Nachtheil hat, dass wir darunter verschiedene pathogene und nicht pathogene Arten verstehen, welche erstere verschiedene Krankheitssymptome hervorrufen können, ist dieselbe in neuerer Zeit ziemlich allgemein angenommen. Es bleibt dahingestellt, ob eventuell später diese Gattung nicht in verschiedene andere aufgelöst werden wird.

Lehmann und Neumann[1] haben einen vorläufigen Schlüssel der

[1] *Atlas und Grundriss der Bakteriologie.* 2. Aufl.



Aktinomycesarten angegeben; als Unterscheidungsmerkmal dient einerseits die Pathogenität. Es darf wohl die Vermuthung ausgesprochen werden, dass die Zahl der pathogenen Arten noch zunehmen werde und dass namentlich verschiedene zu den nicht pathogenen gerechneten Species unter gewissen Bedingungen auch pathogen wirken können. Die Momente, welche neben der Pathogenität zur Unterscheidung der einzelnen Arten herangezogen worden sind: Temperatur, Wachsthum auf Agar, Kolbenbildung u. s. w., können nach dem oben Mitgetheilten nicht mehr als ausreichend bezeichnet werden, um eine Differencirung zu ermöglichen.

In Bezug auf die von mir untersuchten **pathogenen Arten** (neben den mitgetheilten Fällen habe ich eine Anzahl Culturen aus dem Institut Pasteur in Paris und aus dem Král'schen Laboratorium erhalten und genauer untersucht) würde ich, gestützt auf die morphologischen Merkmale, folgende vorläufige Gruppeneintheilung vorschlagen:

1. Gruppe. Wachsthum aërob auch bei Zimmertemperatur. Die Colonieen auf Agar und auf Blutserum sind mit dem Nährboden fest verwachsen und senden zahlreiche mycelartige Ausläufer in das feste Substrat aus.

a) Die Gelatine wird verflüssigt. Fäden meist lang, verfilzt, nicht zerreisslich. Hierher gehören die Arten: Actinomyces hominis und bovis (Bostroem, Affanassieff u. s. w.); Actin. Madurae.

b) Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Fäden zerreisslich, daher in den Ausstrichpräparaten meist kurze Formen. Hierher gehören: Actinomyces asteroides (Eppinger), Actinomyces caprae (Silberschmidt).[1]

2. Gruppe. Die Colonieen sind mit dem Nährboden nicht verwachsen; keine Ausläufer. Gelatine nicht verflüssigt. Fäden meist kurz, viele bacilläre Formen. Als Vertreter dieser Gruppe wären anzuführen: Actin. farcinic. und der aus Fall 3 isolirte Mikroorganismus.

3. Gruppe. Wachsthum vorzugsweise anaërob. Die Colonieen zeigen keine mycelartigen Ausläufer; in festen Nährböden sind die Colonieen meist klein, scharf begrenzt. Kein Wachsthum in Gelatine, kein Wachsthum bei Zimmertemperatur. Die Fäden sind meist kurz; die Colonieen lassen sich sehr leicht zerdrücken und vertheilen.

In den Culturen auf künstlichen Nährböden bleiben die Mikroorganismen nicht so lange lebensfähig wie in den zwei ersten Gruppen.

Hierher gehören 7 der weiter oben beschriebenen Reinculturen (Fall 1, 2, 4, 5, 6 und 7, auch Actin. bovis).

Diese Eintheilung kann nur als eine vorläufige bezeichnet werden. Der Pleomorphismus der einzelnen Arten ist ein sehr grosser; trotzdem

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* Nov. 1898.

bleibt eine gewisse Constanz erhalten, so z. B. in Bezug auf Tiefenwachsthum. Ich habe niemals eine Agarcultur von Actin. madurae oder von Actin. bovis Bostroem gesehen, welche nicht fest mit dem Nährboden verwachsen war, währenddem dies bei Actin. farcinicus nicht der Fall war; diese verschiedenen Culturen habe ich mehr als 3 Jahre lang verfolgt. Dass es gelingt, eine gewisse Gewöhnung an Luftzutritt bei den ursprünglich anaërob wachsenden Arten zu erzeugen, ist zur Genüge nachgewiesen worden. Der in Fall 3 isolirte Mikroorganismus liefert uns ein schönes Beispiel der Anpassung an verschiedene Temperaturen. Die Länge der Fäden ist von secundärer Bedeutung, indem je nach dem Alter, dem Nährboden, der Art der Herstellung des Präparates ein und derselbe Mikroorganismus ganz verschiedene Bilder aufweisen kann. Man darf daher nicht nach der Untersuchung eines oder nur weniger Präparate ein Urtheil fällen; wird aber von demselben Untersucher consequent dieser Punkt berücksichtigt, so wird doch in vielen Fällen ein deutlicher Unterschied wahrgenommen werden können. So konnte ich beispielsweise die längsten Fäden mit deutlichen Verzweigungen beobachten in der Cultur von Actinomyces bovis (Paris); die Fäden von Act. madurae sind etwas mehr geschlängelt und nicht ganz so lang; in Präparaten von Act. Eppinger trifft man meist nur kurze, bacilläre Formen an. Wie ist nun dieser Unterschied zu erklären? Haben wir es mit einer Sporulation zu thun? Diese Frage ist nicht leicht zu beantworten. Kruse[1] unterscheidet Fragmentation und Sporulation (Segmentation) bei den Streptothricheen; dieser Autor giebt aber zu, dass eine strenge Differencirung zwischen beiden Vorgängen schwierig ist. Sauvageau et Radais[2] und Lachner-Sandoval[3] haben typische Segmentationen abgebildet. Es ist mir nicht gelungen, ähnliche Bilder zu erhalten. In den untersuchten Fällen handelte es sich vielmehr um eine Fragmentation: die einzelnen Stäbchen waren sowohl in der Form als in der Länge verschieden. Nach meiner Erfahrung ist die Fragmentation namentlich bei den Gruppen 2 und 3 verbreitet, währenddem die saprophytischen Aktinomyceten meist nicht fragmentirt erscheinen. Dieses verschiedene Verhalten lässt sich vielleicht erklären durch eine verschiedene Widerstandsfähigkeit der Membran; auf die mangelhafte und ungleichmässige Färbung der Aktinomyceten ist häufig aufmerksam gemacht worden. Die Fäden erscheinen wie zusammengesetzt aus einzelnen verschieden langen Gliedern, welche in einer farblosen oder ganz schwach gefärbten Scheide liegen. Bei ge-

[1] Flügge, *Mikroorganismen*. 2. Aufl. Bd. II. S. 49.
[2] *Annales de l'Institut Pasteur*.
[3] A. a. O.



nauerer Untersuchung sind die einzelnen Glieder nicht scharf abgegrenzt. Aehnlich kann man beobachten, dass in Präparaten mit meist kurzen Formen die einzelnen Stäbchen manchmal wie abgerissen, zugespitzt erscheinen. Diese Fragmentation findet man nicht nur in älteren Culturen, sondern schon nach wenigen Tagen. Die Frage, ob ein jedes Fragment lebens- und entwickelungsfähig ist, kann ich nicht beantworten; es ist mir aber aufgefallen, dass bei den Uebertragungen diejenigen Röhrchen, welche nur mit wenig Material geimpft worden waren, oft steril blieben, währenddem die anderen mit mehr Material geimpften eine Weiterentwickelung zeigten. Ob die Keulenbildung im Innern des Organismus als eine Quellung der Scheide, bezw. der mit den gewöhnlichen Farbstoffen nicht färbbaren Membran anzusehen ist, bleibe dahingestellt.

Bis jetzt haben wir uns hauptsächlich mit der Aktinomykose beim Menschen befasst. Sowohl von klinischer als von pathologisch-anatomischer Seite ist die Mannigfaltigkeit dieser Erkrankung hervorgehoben worden. Die Fälle, welche als Pseudoaktinomykose, als Madura Fuss u. s. w. beschrieben wurden, können mit Fug und Recht unter der allgemeiner gefassten Rubrik der Aktinomykose untergebracht werden. Aehnlich verhält es sich mit der Aktinomykose des Rindviehes und anderer Thiere, so z. B. mit der von mir beschriebenen tuberculoseartigen Lungenerkrankung bei einer Ziege mit einem thierpathogenen Mikroorganismus derselben Gruppe als einzigem Befund[1], mit dem „Farcin du bœuf“ u. s. w. Es ist wahrscheinlich, dass die unter dem Namen des Madura Fusses bekannte Erkrankung bakteriologisch auch nicht als eine einheitliche zu betrachten ist; in einigen neueren Veröffentlichungen wird diese Affection als Aktinomykose bezeichnet.

Es wird immer schwer fallen, bei vergleichenden Untersuchungen die einzelnen Arten von einander zu trennen. Hier muss wiederholt auf den Pleomorphismus aller Vertreter dieser Classe aufmerksam gemacht werden. Kleinen Unterschieden in Bezug auf Farbstoffbildung, Ueppigkeit des Wachsthumes, Temperaturoptimum u. s. w. darf man keinen zu grossen Werth beilegen; es müssen vielmehr alle uns zur Verfügung stehenden Differenzirungsmerkmale zusammen berücksichtigt werden.

Auch der Werth der von einigen Autoren besonders gewürdigten Pathogenität für Thiere darf in der Beurtheilung nicht überschätzt werden. Währenddem nach Injection des Act. (Streptothrix) caprae bei Meerschweinchen typische Tuberkelbildung beobachtet wurde, erwiesen sich die hier besprochenen Arten als wenig virulent. Es gelang wiederholt, bei Meerschweinchen und bei Mäusen locale Eiterung zu erzeugen

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. S. 841.

und die Vermehrungsfähigkeit im Innern des Organismus nachzuweisen, allein kein einziges Thier ist in Folge der Impfung zu Grunde gegangen.

Von den pathogenen Mikroorganismen, welche namentlich mikroskopisch eine grosse Aehnlichkeit mit den Aktinomycesarten aufweisen, ist vorerst der Diphtheriebacillus anzuführen. Die Aehnlichkeit ist so gross, dass es verschiedenen Mitarbeitern im Laboratorium, welche sich zum Theil eine besondere Erfahrung in Diphtherieuntersuchungen angeignet hatten, schwer fiel, ein Präparat einer Cultur von Aktinomykose von einem Diphtheriebacillenpräparat zu unterscheiden. Nicht nur in den Culturen ist die Aehnlichkeit sehr gross; auch in directen Präparaten aus dem Eiter habe ich Formen beobachtet, welche denjenigen in diphtherischen Pseudomembranen sehr ähnelten. In den Culturen eines Falles von Aktinomykose der Zunge beim Rinde habe ich einen Mikroorganismus gefunden, welcher den sogenannten Pseudodiphtheriebacillen zuzurechnen ist; in den übrigen Fällen war hie und da die Bouilloncultur (feiner, sandartiger Bodensatz längs den Wandungen) etwas diphtherieverdächtig, die anderen Culturen aber nicht. Aehnlich wie bei Diphtheriebacillen kann man die kolbenartigen endständigen Verdickungen, die Parallelanordnung, die Winkelstellung regelmässig beobachten, namentlich bei den Vertretern der Gruppen 2 und 3. Im Falle 4, den ich auch der Gruppe 3 einreihe, waren die kurzen Formen nicht immer vorherrschend wie in den übrigen angeführten Fällen; es waren ziemlich viele (Taf. IV, Fig. 9) lange, verfilzte Fäden wie bei Gruppe I.

Bekanntlich ist schon wiederholt auf die Aehnlichkeit des Aktinomycespilzes mit dem Tuberkelbacillus aufmerksam gemacht worden. Ein Vergleich der Culturen der Act. bovis (Bostroem), Act. madurae, Act. farcinicus mit denjenigen des Tuberkelbacillus lässt die Aehnlichkeit leicht erkennen. Die Verwandtschaft beider Mikroorganismen ist aber in letzter Zeit noch näher gerückt, seitdem wir Verzweigungen und Anschwellungen beim Tuberkelbacillus kennen gelernt haben und namentlich seitdem aktinomykoseartige Veränderungen mittels Reinculturen des Tuberkelbacillus experimentell erzeugt worden sind. Die Sonderstellung, welche Jahrzehnte hindurch dem Tuberkelbacillus zuerkannt wurde, namentlich in Bezug auf seine Säurefestigkeit, ist auch nicht mehr vollauf gerechtfertigt. Wir kennen in den von Petri, Rabinowitsch, Moeller, Tobler u. A. aus Butter, Gras u. s. w. isolirten Mikroorganismen Bakterien, welche ebenfalls, wenn auch in etwas geringerem Grade, säurefest sind. Diese sogenannten säurefesten Bakterien können aber in künstlichen Nährböden diese Säurefestigkeit einbüssen; am letzten internationalen medicinischen Congress in Paris wurde von Marmorek angegeben, dass Tuberkelbacillen unter gewissen Bedingungen ihre Beständigkeit gegenüber

Entfärbung verlieren. Es seien hier noch die durch Injection von Tuberkelbacillen in den Körpern von Kaltblütern erhaltenen Varietäten des Koch-schen Bacillus angeführt. Diese Thatsachen führen uns zu der Annahme, dass heutzutage die Verwandtschaft des Tuberkelbacillus mit den Actinomyceten eine sehr grosse ist und dass sowohl in Bezug auf das morphologische wie auf das biologische Verhalten eine Reihe von Uebergangsformen schon bekannt sind.

Die Abgrenzung der Bakterien gegenüber höher organisirten Mikroorganismen fällt immer schwerer, und die Möglichkeit, dass noch andere Mikroorganismen aktinomykoseartige Erkrankungen erzeugen können, ist gegeben.

Welche Momente bei der Entstehung der Aktinomykose mitspielen, ist schwer zu sagen. Vielleicht stellen Fremdkörper überhaupt (in Form von Gerstengrannen, Gras oder Strohstücken, Staub u. s. w.) ein prädisponirendes Moment dar. Die Mischinfection darf hingegen nach unseren Ergebnissen in der Regel nicht angeschuldigt werden.

Ueber die genauere Aetiologie der beschriebenen Fälle ist mir nur wenig bekannt. Im Falle 5 trat die Erkrankung am Oberkiefer kurz nach Anbringung eines künstlichen Gebisses auf. Im Falle 6 gab Patient an, er habe häufig Getreidegrannen und Strohhalme gekaut. In den drei Fällen von Aktinomykose des unteren Thränencanälchens war von einer Infection nichts zu erfahren. Im Falle 1 ist die Eintrittspforte in der Lunge zu suchen; im Falle 7 konnte nichts festgestellt werden.

Was die Verbreitung der Aktinomyceten in der Aussenwelt anbetrifft, so möchte ich eine interessante Beobachtung hier anführen. Vor einem Jahre erhielt ich von Hrn. Prof. Dr. O. Wyss ein Hühnerei mit merkwürdigen hellen, durchscheinenden wärzchenartigen, etwa stecknadelkopfgrossen Gebilden an der Innenwand der Schale. Mikroskopisch und auch culturell waren typische langverzweigte Fäden, ähnlich dem Act. bovis Boström, nachweisbar. Das Ei war etwa 5 Monate lang trocken auf Stroh aufbewahrt worden, es roch gar nicht, und Eigelb und Eiweiss hatten normale Beschaffenheit. Die Infection wird wohl als eine secundäre betrachtet werden dürfen. Am wahrscheinlichsten ist ein Durchwandern des betreffenden Mikroorganismus durch die Schale während des Liegens auf dem Stroh.

Einen zweiten Aktinomyces habe ich aus dem Mageninhalt eines an Magencarcinom erkrankten Mannes isolirt.



Schlussfolgerungen.

1. Die frühere Annahme, dass die Aktinomykose eine specifische, durch einen einzigen Strahlenpilz erzeugte Erkrankung darstellt, ist nicht richtig. Eine Reihe von verschiedenen Mikroorganismen sind im Stande, das typische Krankheitsbild zu erzeugen.

2. Die Drusen lassen sich nicht immer makroskopisch nachweisen. Diese Drusen, mit oder ohne periphere Keulen versehen, stellen Colonieen dar, welche im Körper von verschiedenen Mikroorganismen gebildet werden.

3. Die directe mikroskopische Untersuchung der Drusen oder der Gewebsschnitte gestattet den Nachweis von Mikroorganismen, reicht aber nicht aus zu einer Diagnose derselben.

4. Um den Krankheitserreger zu erkennen, ist die Anlegung von Culturen erforderlich. Die Erlangung von Reinculturen ist nicht so schwierig, wie dies angegeben worden ist. In den meisten der untersuchten Fälle genügten hierzu einige aërobe und anaërobe Agar- und Bouillonculturen.

5. Mischinfectionen sind bei Aktinomykose des Menschen nicht die Regel.

6. Nach unseren jetzigen Kenntnissen ist eine auf Grund bakteriologischer Untersuchungen aufgestellte Differenzirung zwischen Aktinomykose und Pseudoaktinomykose nicht durchführbar.

7. Die meisten bei Aktinomykose gefundenen Mikroorganismen gehören der Classe der Aktinomyceten (Streptothricheen) an. In dieser morphologisch und biologisch noch nicht genügend bekannten Classe kann man jetzt schon gewisse Unterabtheilungen aufstellen.



Erklärung der Abbildungen.
(Taf. III u. IV.)

Tafel III.

Fig. 1. Fall 6. Stichcultur in Agar.

Fig. 2. Fall 6. Agarcultur flüssig geimpft.

Fig. 3. Aktinomykose des Rindes. Agarcultur.

Fig. 4. Fall 5. Bouilloncultur.

Fig. 5. Fall 7. Anaërob aufbewahrte Oberflächencultur auf Agar.

Fig. 6. Fall 3. 10tägige Agarcultur bei 37° C. aufbewahrt.

Fig. 7. Fall 3. 10tägige Agarcultur bei 22° C. aufbewahrt. Beide gleichzeitig aus derselben Cultur überimpfte Röhrchen sehen ganz verschieden aus.

Fig. 8. Fall 3. Präparat aus einer Serumcultur.

Fig. 9. Aktinomykose des Rindes. Aus einer Agarcultur.

Tafel IV.

Fig. 1. Fall 1. Ausstrichpräparat von Eiter.

Fig. 2. Fall 1. Aus 20tägiger Bouilloncultur.

Fig. 3. Fall 5. Ausstrichpräparat von Eiter eines mit einer Reincultur subcutan geimpften Meerschweinchens.

Fig. 4. Fall 5. Aus einer Tiefencolonie in Agar.

Fig. 5. Fall 7. Schnittpräparat durch eine Druse (Dr. O. Nägeli).

Fig. 6. Fall 7. Aus einer 10tägigen Agarcultur. 11. Generation.

Fig. 7. Fall 6. Ausstrichpräparat von Eiter.

Fig. 8. Fall 6. Aus einer 6tägigen Bouilloncultur. 3. Generation.

Fig. 9. Fall 4. Aus einer Bouilloncultur.

Die Zeichnungen wurden von Hrn. L. Schröter in Zürich ausgeführt.

[Aus dem hygienischen Institut in Bonn.]

Ueber das Verhältniss der Agglutinine zu den Schutzkörpern.

Von

Dr. **Aldo Castellani,**
Assistenten der medicinischen Klinik in Florenz.

Es ist wohl allgemein bekannt, wie weit über dieses Thema die Ansichten der Autoren auseinandergehen. Ich habe nicht die Absicht, die gesammte Litteratur hier durchzusprechen, sondern will nur angeben, dass auch in neuester Zeit Arbeiten erschienen sind (Deutsch, und aus dem hiesigen Laboratorium Jatta), in denen die Verfasser zu Resultaten gelangen, die sich durchaus widersprechen.

So bekennt sich Jatta, wenn er auch die Nothwendigkeit weiterer Untersuchungen zugiebt, zur Ansicht der Autoren (Gruber, Durham, Trumpp u. s. w.), für die die Agglutination nur eine Immunitätsreaction ist; dagegen leugnet Deutsch durchaus die Identität von Schutzkörpern und agglutinirenden Substanzen.

Gerade wegen der widersprechenden Ergebnisse habe ich mich auf den Vorschlag des Hrn. Prof. Kruse von neuem mit der Frage beschäftigt. Der Plan meiner Arbeit weicht nicht wesentlich von demjenigen meiner Vorgänger ab. Sie besteht aus parallel laufenden Untersuchungen über Schutz- und Agglutinationsvermögen, aus Beobachtungen, wie diese Eigenschaften sich im Körper entwickeln, und wie sie sich unter verschiedenartigen Bedingungen verhalten.



I. Ueber das Verhalten agglutinirender und schützender Substanzen chemischen und physikalischen Einflüssen gegenüber.

Ueber dieses Capitel sind sich ja die Autoren einig. Mässige Erwärmung (etwa auf 55°, 3 Stunden lang) hat keinerlei Schädigung auf beide Arten von Substanzen zur Folge. Unter dem Einfluss höherer Wärmegrade hingegen verlieren beide Substanzen in gleicher Weise ihre Wirksamkeit (Gruber, Deutsch, Trumpp, Jatta). Jatta und andere haben gezeigt, dass agglutinirende Substanzen und Schutzkörper sich unter der Einwirkung verschiedener chemischer Reagentien (Chloroform, Carbolsäure u. s. w.) ganz gleich verhalten. Ich habe diese Versuche zum Theil nachgemacht und bin zu den nämlichen Resultaten gekommen. Es ist also unmöglich, nach ihrem blossen Verhalten physikalischen und chemischen Einflüssen gegenüber die beiden Substanzen zu unterscheiden, ja nur die geringste Verschiedenheit zwischen ihnen zu finden.

II. Entwickelung der Agglutinations- und Schutzkraft im Serum und in den Organen (Milz).

Pfeiffer und Marx kommt das Verdienst zu, als Erste gezeigt zu haben, welch grosse Rolle Milz und Knochenmark bei der Bildung der Schutzkörper spielen, indem sie fanden, dass bei Kaninchen, die gegen Cholera immunisirt wurden, jene Organe während der ersten Tage eine weit grössere Schutzkraft besitzen als das Serum. Die Untersuchungen von Pfeiffer und Marx wurden dann von Wassermann für den Pneumococcus und von Deutsch für den Typhusbacillus bestätigt. Ferner hat Pfeiffer die Ansicht ausgesprochen, dass auch die agglutinirenden Substanzen während der ersten Tage stärker in Milz und Knochenmark vertreten seien als im Serum. Van Emden constatirte durch Versuche mit dem Bacillus aërogenes, dass bei einem Kaninchen 2 Tage und 18 Stunden nach der Impfung das Agglutinationsvermögen des Milzsaftes grösser war, als das des Serums. Nach 3 Tagen war dann erst das Agglutinationsvermögen des Serums grösser als das der Organsäfte. Deutsch hat bei seinen Versuchen mit dem Typhusbacillus die Resultate nicht bestätigen können, die van Emden mit dem Bacillus aërogenes erhalten hatte. Er fand, dass das Agglutinationsvermögen im Serum immer grösser war, als im Extract der anderen Organe. Auch Rath hat mit dem Typhusbacillus Versuche gemacht und stellt die von van Emden mit Bacillus aërogenes festgestellte Thatsache in Abrede. Die Versuche von Jatta führen hingegen zu Resultaten, die mit denen



von van Emden übereinstimmen. So findet Jatta beispielsweise bei einem Kaninchen, welches 51 Stunden nach der Impfung getödtet wurde, dass das Agglutinationsvermögen des Serums $< 1:10$, während dasjenige des Milzextractes $> 1:30$ war. Bei einem andern Kaninchen, welches 60 Stunden nach der Injection getödtet wurde, agglutinirte der Milzextract in einer Verdünnung von 1:150, während das Serum schon in einer Verdünnung von 1:100 dies in keiner Weise mehr zu thun vermochte.

Deutsch seinerseits bestätigt in einer ganz kürzlich als Erwiderung gegen Jatta erschienenen Arbeit, seine eigenen Resultate. In neuen Versuchen an Meerschweinchen und Kaninchen mit dem Typhusbacillus findet er stets, dass das Agglutinationsvermögen der Organe geringer sei, als das des Blutes. Eine einzige Ausnahme davon macht häufig in den ersten Tagen der Lungenextract, — allein diese, der Lunge entstammenden agglutinirenden Substanzen sind nicht specifisch, da sie verschiedenartige Bacillen agglutiniren. Auch im normalen Thiere soll der Lungenextract grösseres Agglutinationsvermögen besitzen als Säfte anderer Organe.

Bei diesen Meinungsverschiedenheiten erscheinen neue Untersuchungen keineswegs überflüssig. Es sei mir zunächst gestattet, Einiges über die gebrauchten Methoden anzugeben: Der Mikroorganismus, mit dem ich einen grossen Theil meiner Versuche ausgeführt habe, ist der Ruhrbacillus Prof. Kruse's.[1]

Ich versuchte Kaninchen durch subcutane Injection einer frischen Bouilloncultur (2 bis 5 ^{ccm}) oder einer solchen, die eine Stunde lang auf 55° erwärmt worden war, zu immunisiren. Die Kaninchen ertragen im Allgemeinen schon die erste Injection recht schlecht, so dass ich mich stets mit einer einzigen begnügt habe, um so mehr, da diese auch für meine Zwecke ausreichte. Gewöhnlich magern die Kaninchen schnell ab und überleben nicht einmal die zweite Woche. Bei der Autopsie findet man nichts Besonderes, nur manchmal eine diffuse Hyperämie der Darmschleimhaut. Niemals jedoch besteht ein wirklicher dysenterischer Process. Erwähnt sei, dass auch bei den wenigen überlebenden Kaninchen niemals ein hoher Grad von Immunität sich zeigt (die Agglutination ging nicht über 1:400 hinaus).

Bei anderen Versuchen dienten mir die Pseudodysenteriebacillen, Bacillen, die Prof. Kruse[2] bei ruhr-ähnlichen Erkrankungen, die in Irrenhäusern nicht selten vorkommen, gefunden hat. Weder in ihrer Form noch in ihrer Cultur unterscheiden sich diese Bacillen in irgend

[1] Vgl. Kruse, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 40.
[2] *Ebenda.* 1901. Nr. 23.



einer Weise von dem Erreger der echten Dysenterie, sondern nur durch ihr Verhalten im Blutserum, insofern, als sie durch das Serum der echten Ruhrkranken nicht agglutinirt werden, wohl aber durch Serum von Personen, die an der sogenannten Dysenterie der Irren erkrankten. Der Grund dafür, dass ich mich dieser Bacillen bediente, ist der, dass sie weit besser von Kaninchen vertragen werden, und dass man mit ihnen zu ziemlich hohen Graden von Agglutination und Immunisirung gelangen kann.

Zum Studium der specifischen Schutzkraft der Körpersäfte habe ich mich des bekannten Pfeiffer'schen Verfahrens bedient: ich habe die geringste tödtliche Dosis gesucht, welche für die von mir benutzten Mikroorganismen 2 ccm einer 20 Stunden alten Bouilloncultur beträgt; diese wird mit verschiedenen Mengen Serum oder Organextract gemischt und ins Peritoneum junger Meerschweinchen von 250 bis 300 grm Gewicht injicirt. Darauf verfolgt man aufmerksam die Veränderungen, welche die Bakterien in der Peritonealflüssigkeit durchlaufen, indem man vermittelst feiner Capillaren aus Glas Proben extrahirt.

Das Ergebniss war das folgende. Die Controlthiere sterben gewöhnlich nach 12 bis 15 Stunden, und vom ersten Moment an bis zum Tode findet man in der Peritonealflüssigkeit eine wachsende Zahl von Bacillen. Diejenigen Thiere, die mit unzureichendem Serum injicirt sind, sterben meist wenige Stunden nach den Controlthieren. Die mikroskopische Untersuchung lehrt, dass in der ersten Stunde meist eine beträchtliche Abnahme der Mikroorganismen stattfindet, doch ist diese nicht von Dauer, und trotz einer intensiven Phagocytose nehmen die Bacillen stark an Zahl zu. In einzelnen Fällen freilich schreitet die Auflösung der Bakterien so voran, dass man nach Verlauf einiger Stunden keine freien Bacillen mehr beobachtet. Trotzdem stirbt das Thier nach 18 bis 20 Stunden. Bei der Autopsie findet man ein peritoneales Exsudat von schleimiger Consistenz, welches sich in den häufigsten Fällen gänzlich steril erweist.

Bei Thieren, die mit hinreichendem Serum injicirt sind, vollzieht sich die Auflösung der Mikroorganismen schnell. Nach 30 Minuten erscheint der dem Peritoneum entzogene Tropfen klar, und zeigt unter dem Mikroskop nur ganz vereinzelte Bacillen und Leukocyten. Nach ungefähr einer Stunde treten Phagocyten auf, welche die wenigen übriggebliebenen Bacillen einschliessen. Nach 15 Stunden ist die dem Peritoneum entzogene Flüssigkeit trübe, überreich an ein- und vielkernigen Leukocyten, und enthält in der Regel keinerlei Mikroorganismen. Erwähnt sei, dass einzelne Meerschweinchen, bei denen sich das Serum unter dem Mikroskop sich als hinreichend erwiesen hatte, einige Tage später ohne irgend welche Anzeichen von Uebelbefinden lebten, und doch nach 5 bis 6 Tagen starben. Die Autopsie ergab ausser starker Abmagerung keine wesentliche Ver-



änderung, auch war die Peritonealflüssigkeit vor wie nach steril. Aus dem Gesagten geht hervor, dass in einzelnen Fällen die genaue Messung des Immunisirungsvermögens nichts weniger als leicht ist. Als Titre habe ich das kleinste Quantum Serum oder Organextract angenommen, welches, der doppelten tödtlichen Minimaldosis beigemengt, dem Thiere das Leben rettet. Manchmal musste ich als Titre dasjenige Quantum Serum oder Extract annehmen, welches, obwohl es Auflösung der Mikroorganismen herbeiführte, die chronische Intoxication des Thieres nicht hat verhindern können.

Was die Prüfung der Agglutination anbelangt, so ist es rathsam, ebenso wie bei den Typhusbacillen auch für die Dysenteriebacillen stets junge Bouillonculturen anzuwenden, nicht allerdings, weil man in den älteren Culturen Anhäufungen von Bacillen anträfe, ähnlich denjenigen, welche sich beim Erreger in älteren Typhusculturen finden, sondern weil bei alten Culturen die Agglutination viel leichter eintritt, so dass ein Serum, welches keinerlei Einfluss auf frische Culturen ausübt, alte Culturen agglutiniren kann. Es versteht sich von selber, dass ich, um jedem Irrthum in der Deutung vorzubeugen, mich immer eines Controlpräparates bedient habe. Als Grenzwerth für das Maass des Agglutinationsvermögens notirte ich diejenige Verdünnung, welche innerhalb zweier Stunden bei Zimmertemperatur noch deutliche Häufchen bildete. Wenn aber bei einer Verdünnung von 1:5 noch keine Agglutination stattfand, so habe ich in der Tabelle den Werth 0 angegeben.

Nun noch einige Worte über die Bereitung der Organextracte! Nachdem das Thier durch Verblutung getödtet worden ist, werden die Organe gewogen, mit Glaspulver 15 Minuten lang in Mörsern zerrieben, mit 4 Teilen steriler Bouillon emulgirt, 24 Stunden in den Eisschrank gestellt, dann geschüttelt und centrifugirt.

Vor allen Dingen war es nöthig, festzustellen, ob Serum und Milz von normalen Kaninchen eine Schutzkraft gegenüber den Ruhrbacillen besitzen; diese Frage beantwortet folgende Tabelle I.

Tabelle I.

Wirkung normaler Kaninchensera und Milzextracte auf Ruhrbacillen.

Nummer des Kaninchens	Titre des Serums in Centigr.	Titre der Milz in Centigr.
1	über 50	über 50
2	„ 50	„ 68 } ganze Milz
3	„ 50	„ 95 } ganze Milz



Serum und Milz des normalen Kaninchens hat also bis zu der Menge von 0·5 bis 1 ^{grm} keinen Einfluss auf den Ruhrbacillus.

In Tabelle II habe ich die Resultate der Versuche zuammengestellt, die gleichzeitig mit Serum und Milzextract angestellt worden sind. Ich will noch einmal wiederholen, dass ich als Titre das mindeste Quantum Serum oder Extract angenommen habe, welches, mit dem Doppelten der geringsten tödtlichen Dosis vermischt, das Thier rettet. Da es mir nicht gelungen ist, hohe Immunisationsgrade zu erzielen, so habe ich den Titre stets in Centigramm angegeben. Wenn da z. B. steht: > 10, so bedeutet das, dass 10 ^{cg} Serum oder Milzextract keinerlei immunisirende Wirkung haben, so dass der Titre sicherlich höher als 10 ist. Mit <> 10 soll gesagt sein, dass 10 ^{cg} Serum oder Milz, obwohl sie dem Thiere nicht das Leben zu retten vermögen, doch einiges Immunisirungsvermögen besitzen: nämlich deutliche Abnahme der Mikroorganismen in der Peritonealflüssigkeit, in einzelnen Fällen bis zu ihrem völligen Verschwinden, Verzögerung des Todes um einige Stunden, verglichen mit den Controlthieren. Wenn endlich in den Tabellen < 10 verzeichnet ist, so erkennt man daraus, dass 10 ^{cg} eine hinreichende Menge sind, dem Thiere das Leben zu retten; aber ob auch eine geringere Dosis genügt haben würde, wurde nicht untersucht, das heisst der Grenzwerth des Titre wurde nicht festgestellt.

Tabelle II. Vergleich von Serum- und Milzwerth bei immunisirten Kaninchen gegenüber Ruhrbacillen.

Datum der Beobachtung	Nr. des Kaninchens	Titre des Serums	Titre der Milz	Bemerkungen
24 Std. nach d. Inject.	4	> 50	> 50	
32 " " "	5	> 50	<> 50	Bei dem mit 50 ^{cg} Milz injicirten Thier fand gänzliche Auflösung der Bacillen im Perit. statt, u. der Tod wurde nur einige Std. verzögert.
2 × 24 " "	6	> 50	< 50	
2 × 24 " "	7	> 50	< 50	
3 × 24 " "	8	> 50	<> 50	Das mit Milz injicirte Thier lebte 24 Std. länger. Bei der Autop. zeigte die mikroskop. Untersuchung keine Bacillen.
3 × 24 " "	9	> 50	< 50	
3 × 24 " "	10	> 50	< 50	
4 × 24 " "	11	> 50	< 50	
6 × 24 " "	12	30	> 30	
7 × 24 " "	13	30	30	
8 × 24 " "	14	30	20	
12 × 24 " "	15	15	> 15	
22 × 24 " "	16	30	> 50	

Aus dieser Tabelle geht klar hervor, dass in den ersten Tagen die Milz reicher an Schutzkörpern ist als das Blutserum. Allein, in einigen Fällen kann die Milz auch noch in den folgenden Tagen ein grösseres Immunisirungsvermögen besitzen als das Serum.

Wir haben nunmehr zu untersuchen, ob sich das Agglutinationsvermögen ähnlich verhält. Tabelle III zeigt, dass normalerweise weder Serum noch Milzextract ein wesentliches Agglutinationsvermögen dem Ruhrbacillus gegenüber besitzt.

Tabelle III.

Agglutinationswirkung von Serum und Milz normaler Kaninchen gegenüber Ruhrbacillen.

Nr. des Kaninchens	Serumtitre	Milztitre
1	0	0
2	5	0
3	0	0

Ausserdem habe ich bei allen Kaninchen, ehe ich sie immunisirte, den Agglutinationstitre des Serums festgestellt und gefunden, dass er nie höher als 10 war; in den wenigen Fällen, in denen er 5 überstieg, habe ich es immer in der Tabelle vermerkt.

In Tabelle IV sind die Resultate der Versuche aufgeführt, die gleichzeitig über das Agglutinationsvermögen von Serum und Milz angestellt wurden.

Tabelle IV.

Vergleich von Serum- und Milz-Agglutinationswerth bei immunisirten Kaninchen gegenüber Ruhrbacillen.

Datum der Beobachtung	Nr. des Kaninchens	Serumtitre	Milztitre	Bemerkungen
24 Std. nach d. Inject.	4	0	0	
32 „ „ „	5	0	0	
2×24 „ „	6	10	0	
2×24 „ „	7	0	0	
3×24 „ „	8	20	10	
3×24 „ „	9	40	20	
3×24 „ „	10	20	10	
4×24 „ „	11	50	20	
6×24 „ „	12	200	80	Serumtitre vor der Inject. 10.
7×24 „ „	13	200	50	
8×24 „ „	14	300	80	
12×24 „ „	15	400	80	Serumtitre vor der Inject. 10.



Die Tabelle zeigt deutlich, dass auch in den ersten Tagen das Serum stets reicher an Agglutininen als die Milz ist. Wir haben also gerade das entgegengesetzte Verhalten wie bei den Schutzkörpern, wie der Vergleich von Tabelle IV mit Tabelle II zeigt.[1]

Was übrigens die Agglutination anbetrifft, so füge ich hinzu, dass in einigen wenigen Fällen ich auch mit Extracten anderer Organe (Leber, Nieren, Gehirn u. s. w.) experimentirt habe, doch habe ich stets in ihnen ein geringeres Agglutinationsvermögen gefunden als in der Milz. Auch das Knochenmark stand in der Beziehung hinter der Milz zurück.

III. Gehen Schutz- und Agglutinationsvermögen gleichzeitig verloren?

Ueber diese Frage habe ich folgende Versuche angestellt.

Versuch I.

Kaninchen 16. Am 8. I. 1901 mit 6 ccm sterilisirter, eine Stunde lang auf 55° erwärmter Bouilloncultur von Dysenteriebacillen geimpft. Stirbt am 30. Januar.

Datum der Beobachtung	Agglutinations-titre	Immunisations-titre in Centigr.	Bemerkungen
9 Tage nach d. Inj.	300		Auch mit viel geringerer Dosis erreichte man Auflösung der Mikroorganismen, jedoch überlebte das Thier nicht.
20 „ „ „	< 10	30	
22 „ „ „	0	30	

Das Thier starb nach 22 Tagen, ohne dass die Autopsie irgend welche Organstörung gezeigt hätte. Wie die Tabelle zeigt, hatte das Blutserum das Agglutinationsvermögen ganz und gar verloren, während es noch einen bescheidenen Theil seines Immunisirungsvermögens beibehielt. Es ist recht bemerkenswerth, dass die Milz sowohl das Agglutinations- als das Schutzvermögen verloren hatte; die Dosis von 50 cg die in diesem Falle fast die ganze Milz darstellte, hatte nicht die geringste Einwirkung. Das beweist vielleicht, dass die Milz in einem späteren Stadium nicht mehr ein wichtiger Platz für die Schutzkörperneubildung ist.

Versuch II.

Kaninchen 17. Geimpft am 22. December 1900 mit 5 ccm lebender Cultur des Bacillus der Pseudodysenterie.

[1] Um festzustellen, wie die Sache sich beim Typhusbacillus verhält, habe ich auch einige Versuche mit diesem gemacht. Ich fand auch hier stets höhere Agglutinationswerthe im Serum als im Milzsaft, muss also die Resultate Deutschs gegenüber Jatta bestätigen. Früher betrug die Zahl meiner Versuche nur sechs



Datum der Beobachtung	Agglutinations-titre	Immunisations-titre in Centigr.	Bemerkungen
12 Tage nach d. Inj.	2000		Das Serum hatte auch vor der Injection ein Agglutinationsvermögen, welches zwischen 40 u. 80 schwankte.
22 „ „ „	500		
34 „ „ „	50	< 20	
41 „ „ „	50	< 20	

Es verlor sich also auch bei Kaninchen 17 das Agglutinations- vor dem Immunisirungsvermögen. Es ist freilich wahr, dass sogar nach 34, ja nach 41 Tagen, als das Immunisirungsvermögen untersucht wurde, es sich fand, dass das Serum einen Agglutinationswerth bewahrt hatte, der gleich 50 war. Jedoch konnte man diesen Werth nicht als durch die Immunisirung des Thieres hervorgerufen betrachten, da ja das Serum auch vor der Injection der immunisirenden Substanzen einen Agglutinationstitre besass, der zwischen 40 und 80 schwankte. Andererseits bemerke ich, dass das Serum normaler Kaninchen, wenigstens in einer Menge von 50^{cg}, keinerlei immunisirende Einwirkung auf den Bacillus der Pseudodysenterie der Irren ausübt.

Ich will hier auch über einige Beobachtungen berichten, die ich einer noch nicht abgeschlossenen Versuchsreihe über Agglutination bei gemischter Infection entnehme.

Kaninchen Nr. 50 injicirt am 15. December 1900 mit 5^{ccm} Bouilloncultur des Typhusbacillus und 5^{ccm} Bouilloncultur der Pseudodysenterie der Irren.

Datum der Beobachtung	Agglutination auf Typhus-bacillen	Agglutination auf Pseudo-Dysenteriebacillen
Vor der Injection	0	80
10 Tage nach der Injection	5000	2000
75 „ „ „	500	100
80 „ „ „	500	zwischen 50 und 100

Das Immunisirungsvermögen wurde erst nach 80 Tagen untersucht. Das Serum bewahrte noch, ausser dem Typhus gegenüber, auch für den Bacillus der Pseudodysenterie der Irren ein gewisses Immunisirungsvermögen (<30); dabei bemerke ich, dass das Serum eines nur gegen Typhus immunisirten Thieres keinerlei immunisirende Eigenschaften dem Bacillus der Pseudodysenterie der Irren gegenüber besass.

Aus den angegebenen Versuchen geht also hervor, dass in bestimmten Fällen der Verlust des Immunisirungs- und des Agglutinationsvermögens nicht zu gleicher Zeit eintritt.



IV. Kann das Serum eines gegen einen bestimmten Mikroorganismus immunisirten Thieres ein starkes Agglutinationsvermögen auch für andere Mikroorganismen haben, ohne für dieselben irgend welches Immunisirungsvermögen zu besitzen?

Jatta hat durch seine Versuche gezeigt, dass ein Serum, welches in hohem Grade den Typhusbacillus agglutinirt, es auch in erheblich gesteigertem Maasse — verglichen mit dem normalen Serum — einigen Arten des Bac. coli gegenüber thut. Noch mehr! Er findet einen bestimmten Parallelismus in der Agglutinationscurve; das heisst: Je grösser die Agglutination für den Typhusbacillus wird, um so grösser wird sie auch für jene Varietäten des Bac. coli. .

Ich lasse das Resultat eines von mir in entsprechender Weise ausgeführten Versuches folgen; ich bezeichne mit Bac. coli α und Bac. coli β zwei Stämme des Bac. coli, die stark durch das Typhusserum beeinflusst wurden.

Kaninchen Nr. 51, injicirt am 28. Januar 1901 mit 5 ccm lebender Bouilloncultur des Typhusbacillus, am 3. Februar mit 3 ccm und am 10. Februar nochmals mit 3 ccm.

Datum der Beobachtung	Agglutination auf Typhusbacillen	Agglutination auf Bact. coli α	Agglutination auf Bact. coli β
Vor der Injection	0	40	80
4 Tage nach d. Injection	500	100	200
8 „ „ „	2 000	500	500
12 „ „ „	10 000	1500	2000
22 „ „ „	15 000	2000	5000

Das Serum hatte keine nennenswerthe Einwirkung auf verschiedene andere Stämme des Bac. coli. Es agglutinirte ziemlich stark den Bacillus der Pseudodysenterie der Irren, jedoch nur dann, wenn es einen besonders hohen Agglutinationsgrad für den Typhusbacillus erreichte. Nie agglutinirte es den Erreger der echten Dysenterie. Nach 12 und 22 Tagen wurde untersucht, ob das Serum Schutzkraft gegenüber jenen beiden Varietäten des Bac. coli besässe, welche so stark agglutinirt wurden. Es besass keine.

V. Kann man durch Injectionen von Culturen eines bestimmten Mikroorganismus bei einigen Thieren Agglutinationswirkungen, aber keine Schutzkraft erzeugen?

Der Freundlichkeit des Hrn. Professor Kruse verdanke ich es, hier über die Resultate einiger von ihm angestellter Versuche, nämlich über Immunisirung mit dem Bacillus der Dysenterie an einer Anzahl Schafe.



berichten zu können. Es wurde versucht, die Thiere durch wiederholte Injectionen von sterilisirten Culturen (1 Stunde auf 55°) des Bacillus der Dysenterie zu immunisiren. Für jede Injection wurden 10 bis 100 ccm Bouilloncultur verwandt. Vor der Impfung zeigte das Serum keine nennenswerthe Agglutination. Nach wenigen Tagen nahm es einen gewissen Agglutinationswerth an, der Schritt für Schritt stieg. Das erreichte Maximum schwankte zwischen 300 und 500, selten 1000. Ist einmal diese Grenze erreicht, so erlangt das Serum, trotz fortgesetzter Injectionen, einen höheren Werth nicht.

Eine sichere Schutzkraft gegenüber der Infection mit lebenden Ruhrbacillen erlangte das Serum der Schafe nicht, ebenso wenig übrigens, wie das Serum von Ruhrreconvalescenten.

VI. Schlussfolgerungen.

Kurz zusammengefasst sind die Resultate, zu denen meine Untersuchungen mich geführt haben, folgende:

1. Agglutinirende Substanzen und Schutzkörper verhalten sich chemischen und physikalischen Einwirkungen gegenüber in gleicher Weise.

2. Es besteht kein Parallelismus zwischen der Entwickelung des Agglutinations- und der des Immunisirungsvermögens im lebenden Körper. Bei immunisirten Thieren ist in den ersten Tagen das Serum stets reicher an Agglutininen als die Milz, während diese mehr Schutzkörper enthält.

3. Das Blutserum gewinnt zwar sein Agglutinations- und Schutzvermögen ziemlich gleichzeitig, verliert aber das erstere früher als das letztere.

4. Das Serum eines gegen einen bestimmten Mikroorganismus immunisirten Thieres kann ein starkes Agglutinationsvermögen auch anderen Mikroorganismen gegenüber annehmen, ohne jedoch für diese irgend welches Immunisirungsvermögen zu gewinnen.

5. Thiere, die mit Culturen eines bestimmten Mikroorganismus geimpft sind, können in ihrem Serum Agglutinine entwickeln, ohne dort gleichzeitig Schutzkörper zu bilden.

Diese Resultate zwingen uns meines Erachtens dazu, die Ansicht aufzugeben, dass nämlich zwischen schützenden und agglutinirenden Substanzen die engsten Beziehungen bestehen.

Es sei mir zum Schluss gestattet, Hrn. Professor Kruse für die Anregung und Unterstützung, die er mir in so liebenswürdiger Weise hat zu Theil werden lassen, Hrn. Professor Finkler für die mir in seinem Institute gewährte Gastfreiheit und dem Assistenten des Institutes Hrn. Dr. Stöcker für seine stete Hülfsbereitschaft meinen aufrichtigsten Dank auszudrücken.

Litteratur-Verzeichniss.

Ich habe nicht die Absicht, die zahllosen Arbeiten zu citiren, deren Thema Agglutination und Immunisirung ist, sondern nur einige, die sich mit den Beziehungen zwischen beiden Erscheinungen befassen.

Achard et Bensaude, *Acad. des sciences.* 28 sept. 1896. — *Arch. de méd. expérim.* Nov. 1896.

Arloing, *Soc. nat. de méd. de Lyon.* Janvier 1897. — *Soc. de biol.* Paris. Févier 1897.

Baduel, C., *Rivista Critica di Clinica Medica.* 1900. Nr. 20, 21.

Bensaude, *Thèse de Paris.* 1897.

Bordet, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1896. Nr. 4. 1898. Nr. 10. 1899. Nr. 3.

Casagrande, *Soc. Lanc. degli Osp. di Roma.* 1900. 17 marzo.

Courmont, *Presse médicale.* 1897. Nr. 9. — *Soc. biol.* 25 juillet 1896. — *Ebenda.* 5 février.

Chantemesse, *Soc. méd. des Hop.* Paris. Avril 1897.

Deutsch, L., *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899. p. 689—727. — *Wiener med. Presse.* 1899. — *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVIII. Nr. 2.

Ehrlich und Morgenroth, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 1 u. 22. 1900. Nr. 21 u. 31. 1901. Nr. 10. — *Centralblatt für Bakteriologie.* 1900. Nr. 2.

Förster, *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXIV.

Fraenkel u. Otto, *Münchener klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 39.

Fiocca, *Soc. Lanc. degli Osp. di Roma.* 17 marzo 1900.

Gruber, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1896. Nr. 11 u. 12.

Hayem, *Bulletin et Mém. de la Soc. méd. des Hop.* Paris. Janvier 1897.

Jatta, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIII.

Kruse, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 40. — 1901. Nr. 23.

Löffler u. Abel, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896. Nr. 2 u. 3.

Levy u. Bruns, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897.

Nicolle, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. Nr. 3.

Pfeiffer u. Marx, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXI. — *Deutsche med. Wochenschr.* 1898. Nr. 3.

Rath, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Nr. 15 u. 16.

Silvestrini, R., *La Settimana Medica.* 1896.

Trumpp, *Archiv für Hygiene.* 1898. Bd. XXXIII

van Emden, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXX.

Wassermann, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1898. Nr. 10. — *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 9.

Widal, *Presse médicale.* Paris. 27 juin 1896. — *Soc. méd. des Hop.* Paris. Octobre 1896.

Widal et Sicard, *Annales de l'Institut Pasteur.* Mai 1897.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i/Pr.]
(Director: Prof. Dr. R. Pfeiffer.)

Einige Desinfectionsversuche mit einem neuen Desinficiens „Lysoform".

Von

Dr. **Symanski,**
I. Assistenten am Institute.

Unter den Desinfectionsmitteln, die in den letzten Jahren zu klinischen Zwecken Verwendung gefunden haben, nimmt das Lysol noch immer eine hervorragende Stellung ein. Es ist verhältnissmässig wenig reizend in 1 bis 3 procentiger Lösung und hat eine ziemlich hohe desinfectorische Kraft bei einer relativ mässigen Giftigkeit. Ich sage absichtlich „Giftigkeit", denn nach den Erfahrungen, die man im Laufe der Jahre mit dem Lysol gemacht hat, kann man dieses Mittel als ein vollständig ungiftiges durchaus nicht bezeichnen, vielmehr sind bei länger dauerndem Gebrauch desselben, auch bloss rein äusserlichem, z. B. zwecks Desinfection der Hände, namentlich aber bei seiner Verwendung zu Ausspülungen in noch nicht sehr hoch concentrirten Lösungen Vergiftungserscheinungen nicht ausgeblieben.

Aus diesem Grunde muss man es um so freudiger begrüssen, dass die Industrie schon im Laufe des Jahres 1899 ein Präparat auf den Markt gebracht hat, das allen Anforderungen, die man überhaupt an ein Desinficiens stellen kann, voll zu entsprechen scheint. Es ist dies das von Dr. Stephan (Berlin) erfundene und in den Handel gebrachte „Lysoform", ein Formalinpräparat, also ein Desinficiens, das in reiner Gestalt schon seit einer Reihe von Jahren bei der Wohnungsdesinfection mit glänzendem Erfolge Verwendung findet.



Wenn ich gleich im Voraus kurz seine Hauptvorzüge in wenigen Worten zusammenfassen darf, so ist Folgendes zu sagen: es besitzt eine sehr hohe desinfectorische Kraft, ist absolut reizlos, fast geruchlos und, soweit meine Erfahrungen darüber reichen, anscheinend auch vollkommen ungiftig. Hieraus schon ist zu ersehen, dass es die unangenehmen Eigenschaften des Formalins, seine ätzende und erhärtende Wirkung auf die Schleimhäute und auch auf die äussere Haut und seinen stechenden Geruch nicht besitzt.

Das Mittel selbst stellt eine klare, gelbliche Flüssigkeit von ölartiger Consistenz dar, die sich in beliebigem Verhältniss mit Wasser oder Alkohol mischt und beim Schütteln reichlichen Schaum entstehen lässt, der ganz ähnlich wie Seifenschaum die schillernden Regenbogenfarben auf den Blasen aufweist. In concentrirter Lösung auf die Haut gebracht, bewirkt das Lysoform keine Reizerscheinungen irgend welcher Art, ja sogar, wenn dasselbe in dieser Form auf die Schleimhaut gelangt, ruft es nur ein vorübergehendes, bald schwindendes Brennen hervor, ohne Spuren zu hinterlassen, wie ich selbst persönlich mich davon überzeugen konnte, als ich bei unvorsichtigem Pipettiren eine Quantität in die Mundhöhle saugte und so das Lysoform bis in die Gegend der Uvula und der Tonsillen brachte. Es reagirt alkalisch und besitzt keinen hervorstechenden, sondern nur einen schwach aromatischen, nicht unangenehmen Geruch. Mit gewöhnlichem Leitungswasser vermischt, zeigt es bald eine leichte zunehmende Trübung, namentlich auch, wenn man solche Lösungen kalt stehen lässt; doch tritt eine leicht opalescirende Trübung auch bei Mischung mit destillirtem Wasser auf, wenn auch in bedeutend geringerem Grade. Einen Einfluss auf die Desinfectionskraft hat diese Trübung nicht.

Um mir zunächst einen ungefähren Begriff von der Desinfectionskraft des Lysoforms zu verschaffen, stellte ich mir eine Mischung von gewöhnlicher Nährbouillon und faulendem Harn her zu gleichen Theilen, die 2 Tage lang bei 37° gehalten wurde. In dieser Zeit hatte sich die Mischung in eine dickliche, gelbe, undurchsichtige und intensiv stinkende Flüssigkeit verwandelt. Diese Mischung, welche im hängenden Tropfen ungeheure Mengen der verschiedensten — darunter auch viele sporentragende — Bakterien zeigte, benutzte ich nun, um die desinfectorische Kraft des Lysoforms und Lysols in Parallelversuchen zu prüfen. Hierzu wurden je 4 Erlenmeyer'sche Kölbchen mit je 100 ccm der Flüssigkeit gefüllt und mit je 0·01 bis 0·1 bis 0·5 und 1·0 ccm von Lysoform bezw. Lysol versetzt, gut umgeschüttelt und dann vor Licht geschützt im Zimmer bei gewöhnlicher Zimmertemperatur aufbewahrt. Gleichzeitig wurde mit einer kleinen Oese der Flüssigkeit eine Controlplatte (6 procent. Glycerinagar) gegossen. Nach 24, 2 × 24 und 3 × 24 Stunden wurden



dann von sämmtlichen Proben Platten mit je 1 Oese und 6 procentigem Glycerinagar gegossen und bei 37° gehalten. Die Resultate gebe ich in der folgenden Tabelle:

	Nach 24 stündiger Einwirkung		Nach 2 × 24 stündiger Einwirkung		Nach 3 × 24 stündiger Einwirkung	
	Lysoform	Lysol	Lysoform	Lysol	Lysoform	Lysol
0·01 ccm	unzählige Keime	unzählige Keime	unzählige Keime	unzählige Keime	unzählige Keime	unzählige Keime
0·1 „	„	„	„	ca. 8000 Keime	„	ca. 7000 Keime
0·5 „	ca. 7000 Keime	steril	ca. 4000 Keime	steril	ca. 500 Keime	steril
1·0 „	200 Keime	„	100 Keime	„	20 Keime	„

Die aufgegangenen Colonieen waren hauptsächlich solche verschiedener Proteusarten und anderer Fäulnissbakterien.

Aus diesem Versuche war nun zunächst zu entnehmen, dass das Lysoform zwar auch, jedoch nicht in so hohem Grade, keimtödtend wirkt, wie das Lysol, dass aber eventuell stärker concentrirte Lösungen des ersteren denselben Effect hervorzubringen im Stande sein würden, wie schwächere des Lysols. Nicht unerwähnt möchte ich lassen eine Thatsache, die schon bei diesem Versuch hervortrat, dass nämlich das Lysoform auch desodorirend auf derartige stinkende Flüssigkeiten einwirkt und zwar in wesentlich höherem Grade wie das Lysol, so dass beispielsweise das mit 1 ccm Lysoform versetzte Kölbchen nach 24 Stunden fast desodorirt war, während das entsprechende Lysolkölbchen noch einen intensiven Gestank verbreitete.

Des Weiteren stellte ich noch einen Versuch mit einer anderen, stark eiweisshaltigen Flüssigkeit an, nämlich mit verdünntem, stark in Fäulniss gerathenen Rinderblut. Hierbei prüfte ich nur die Wirkung des Lysoforms und zwar setzte ich zu je 100 ccm der Faulflüssigkeit 0·01 bis 5·0 ccm des Mittels, wobei ich namentlich auch auf seine desodorirende Kraft achtete. Nach nur 10 Minuten langer Einwirkung des Desinficiens wurden von jeder Probe mit einer kleinen Oese Probeentnahmen gemacht und zu Agarplatten verarbeitet, die wie bei dem obigen Versuch dann bei 37° gehalten wurden. Die Resultate folgen in untenstehender Tabelle:

	Keimzahl	Geruch nach 24 std. Einwirkung
0·01 ccm	unzählige Keime	stinkt noch intensiv
0·1 „	„ „	mässiger Gestank



	Keimzahl	Geruch nach 24 std. Einwirkung
0·5 ccm	unzählige Keime	fast desodorirt
1·0 „	„ „	„ „
2·5 „	ca. 10 000 Keime	„ „
5·0 „ .	ca. 5000 Keime	völlig desodorirt

Unter den Colonieen befanden sich wieder hauptsächlich solche von Proteus-Arten.

Im Anschluss an diese Desinfectionsversuche, die an stark eiweisshaltigen und ungeheure Mengen von Bakterien enthaltenden Flüssigkeiten angestellt waren, machte ich noch einige weitere Versuche, wobei ich als Testobjecte an Seidenfäden angetrocknete Milzbrandsporen und Barchentläppchen benutzte, die mit staphylokokkenhaltigem Eiter ganz durchtränkt und dann im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet wurden. Die Milzbrandsporen waren solche von mittlerer Resistenz, d. h. sie wurden erst durch eine länger als 4 Minuten dauernde Einwirkung strömenden Dampfes abgetödtet.

Bei dem ersten Versuch mit Sporenfäden stellte ich wieder einen Parallelversuch mit Lysol an und zwar benutzte ich 1-, 2-, 3- und 5 procentige Lysol- bezw. Lysoformlösungen. Dieselben wurden mit destillirtem Wasser hergestellt, und es erwiesen sich die schwächeren Lösungen von Lysoform als fast farblos, nur die 5 procentige Lösung war ziemlich deutlich gelb gefärbt. Die Lösungen blieben dann mit dem aufgekochten heissen Wasser vermischt zunächst völlig klar und zeigten erst nach einigem Stehen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur eine mehr oder weniger leichte Opalescenz. Alle Lösungen schäumten bei leichtem Schütteln sehr stark, zeigten, wie schon oben erwähnt, einen dem Seifenschaum ganz ähnlichen Schaum und bildeten erst nach längerem Stehen ein feines Sediment, das beim Umschütteln die Flüssigkeit mehr oder minder wolkig trübte. In diesen Lösungen wurden die Fäden 24 Stunden gehalten. Nach dieser Zeit zeigten die Controlfäden üppiges Wachsthum, ebenso nach ihrer Uebertragung in Bouillon bezw. auf Agar sämmtliche in Lysol und die in 2- und 3 procentiger Lysoformlösung gewesenen Fäden, während die mit 3- und 5 procentiger Lysoformlösung behandelten Fäden steril blieben. Da die genauere chemische Zusammensetzung des Lysoforms zur Zeit noch nicht bekannt gegeben ist, so konnte ich nicht ohne Weiteres etwa, wie z. B. bei gewöhnlichem Formalin, eine entsprechende Ammoniaklösung zur Neutralisirung anwenden, ich musste vielmehr, um eine Nachwirkung des Desinficiens nach Möglichkeit auszuschalten, derart verfahren, dass die Fäden äusserst vorsichtig zunächst in Nähr-



bouillon abgespült und dann zum Schluss auf schräg erstarrte Agarnährböden gebracht wurden. Alle diese Röhrchen wurden dann im Brütschrank bei 37° gehalten und 14 Tage lang beobachtet. Das Endresultat war das oben genannte. Ich hatte bei diesem Versuche, wie oben erwähnt, das Ausfallen eines Sediments nach einigem Stehen beobachtet und war dadurch auf den Gedanken gekommen, dass hierbei eventuell eine stärkere Concentration der Lösungen am Boden der Reagensgläschen sich bilden könnte, und auf diese Weise günstigere Resultate vorgetäuscht werden könnten. Um diesem Einwande zu begegnen, richtete ich es bei einem zweiten, in der Anordnung sonst ganz gleichen Versuche so ein, dass die Fäden, an anderen sterilen Fäden aufgehängt, nur in die obere Flüssigkeitsschicht hineintauchten. Aber auch so fiel der Versuch genau ebenso aus, ein Zeichen also dafür, dass die Bildung dieses Sedimentes ohne Einfluss auf die Concentration der Lösung im Ganzen ist.

Da es nun von Interesse war, festzustellen, ob Milzbrandsporen eventuell schon in kürzerer Zeit abgetödtet werden könnten als in 24 Stunden, stellte ich noch einige darauf hin gerichtete Versuche an: dabei ergab sich als untere Grenze der Zeit, in der diese Sporen in einer 3 procentigen Lösung abgetödtet werden, die ungemein geringe Zeitdauer von nur 8 Stunden. Die folgende Tabelle giebt die Versuchsresultate im Einzelnen wieder:

Erkennbares Wachsthum:	5 Min.	2½	3	4	5	6	7	8	10	12	18
		Stunden									
Mikroskopisch nach 10 Stunden	+	—	—	—	—	—					
Mikroskopisch nach 24 Stunden		+	+	—	—	—					
Makroskopisch nach 24 Stunden	+	+		—	—	—					
Mikroskopisch nach 32 Stunden				+	—	—					
Mikroskopisch nach 48 Stunden					+	+					
Makroskopisch nach 48 Stunden			+								
Mikroskopisch nach 54 Stunden											
Makroskopisch nach 70 Stunden				+	+	+					
innerhalb der nächsten 11 Tage						+ sehr spärlich		—	—	—	—

Controlröhrchen: üppig gewachsen in 12 Stunden.

Dies sehr günstige Resultat war ja theilweise wohl dadurch bedingt, dass die betreffenden Mikroorganismen ganz schutzlos ohne eine sie einhüllende Eiweisschicht den Angriffen des Desinficiens ausgesetzt waren. Dass jedoch das Lysoform auch mehr oder minder dicke eiweisshaltige Substanzen zu durchdringen und die darin enthaltenen Keime in kurzer



Zeit zu vernichten vermag, bewiesen meine weiteren an mit Staphylokokkeneiter durchtränkten Wollläppchen angestellten Versuche. Hier erfolgte eine Abtödtung des in dem Eiter enthaltenen Staphylococcus pyog. aur. vermittelst einer 2 procentigen Lösung schon innerhalb einer Minimalfrist von 5 Stunden. Bei kürzerer Einwirkungsdauer dieser Lösung blieben die Kokken noch entwickelungsfähig.

Einen merklichen Unterschied zwischen der Einwirkung einer kalten oder einer warmen Lösung habe ich nicht constatiren können, ebensowenig eine wesentlich stärkere Einwirkung des Mittels in alkoholischer statt in rein wässeriger Lösung.

Was die toxikologischen Eigenschaften des Lysoforms betrifft, so kann ich ein sicheres und endgültiges Urtheil, soweit sich aus Thierversuchen überhaupt ein Schluss in dieser Hinsicht ziehen lässt, nicht abgeben, da meine Versuche nicht zahlreich genug gewesen sind und nur an weissen Mäusen und Meerschweinchen angestellt wurden. Ich wählte zu meinen Versuchen Mäuse von über 20 grm und Meerschweinchen von 300 bis 360 grm Gewicht. Drei Mäusen wurde intraperitoneal mit stumpfer Kanüle je 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung applicirt, in dem bestimmte Mengen von Lysoform (0.1, 0·2 und 0·3 ccm) enthalten waren; weiteren 3 Mäusen wurden dann die gleichen Mengen subcutan und einer 7. Maus 0·1 ccm reines Lysoform (nicht vermischt mit NaCl-Lösung) eingespritzt, im Verhältniss zum Körpergewicht dieser kleinen Thiere also recht grosse Quantitäten von Lysoform. Ferner wurden 3 Meerschweinchen in ähnlicher Weise intraperitoneal behandelt: einem Thier injicirte ich 0·2 ccm Lysoform + 0·8 ccm NaCl-Lösung, einem zweiten 0·5 ccm Lysoform + 0·5 ccm NaCl-Lösung und dem dritten 1 ccm Lysoform + 1 ccm NaCl-Lösung. Gleichzeitig stellte ich bei Mäusen noch Fütterungsversuche an in der Weise, dass einer Maus ein kleiner Würfel Brod mit 0·2 ccm, einer zweiten ein solcher mit 0·3 ccm und einer dritten ein solcher mit 0·5 ccm Lysoform getränkt zum Verzehren vorgelegt wurde. Die Ergebnisse waren bei den Mäusen sehr günstige insofern, als alle die Injection bezw. Fütterung gut überstanden. Kurze Zeit nach der Injection zeigten die mit stärkeren Lösungen geimpften Mäuse krampfartige Zuckungen in Verbindung mit einem lähmungsartigen Zustand der hinteren Extremitäten und verstärkter Flankenathmung; den nächsten Tag jedoch schon waren diese Erscheinungen verschwunden, und die Thiere verhielten sich dann dauernd in jeder Hinsicht völlig normal. Nicht so günstig waren die Resultate bei den Meerschweinchen; sämmtliche Thiere gingen ein, 2 schon nach 8 und das mit der schwächsten Dosis geimpfte nach etwa 15 Stunden. Bei der Section wurde eine starke Röthung der Nieren, Milzschwellung, Injection des Peritoneums und ein blutig-seröses Exsudat in der Bauchhöhle



constatirt. Es lässt sich, wie schon gesagt, aus diesen Ergebnissen nicht viel schliessen, namentlich, da auch festgestellt werden müsste, inwieweit das Mittel bei länger fortgesetztem innerlichen bezw. äusserlichen Gebrauch auf den Organismus wirkt. Nur soviel scheint aus den Versuchen — abgerechnet die an den Meerschweinchen angestellten, da diese Thierspecies gegen Gifte überhaupt sehr empfindlich reagirt — hervorzugehen, dass das Mittel in der That anscheinend zu den wenig toxisch wirkenden gehört. Ausführliche Untersuchungsergebnisse in dieser Hinsicht sollen demnächst von Dr. Vertun (Berlin) veröffentlicht werden.

Es erübrigt noch, zum Schluss auf die in der Litteratur vorhandenen Angaben über das Lysoform einzugehen. Die Ansichten der Autoren lauten übereinstimmend günstig.

Strassmann spricht in seiner Arbeit „Zur Händedesinfection, nebst Bemerkungen über Lysoform“)[1] sich sehr anerkennend über die Erfolge des Mittels aus, die er bei seiner Anwendung als ausschliessliches Desinficiens in der geburtshülflichen Poliklinik der Königl. Charité gehabt hat. Es könne das Mittel auch unbedenklich Patientinnen in die Hand gegeben werden, da Ereignisse, wie bei Sublimat, Carbol und Lysol bei diesem Mittel ausgeschlossen wären. Weder Instrumente noch Wäsche würden von Lysoform angegriffen, Verbrennungen und Verätzungen seien ganz ausgeschlossen.

Derselbe Autor constatirt in einer anderen Arbeit[2] die schon von mir oben erwähnte auffallende fäulnisswidrige Wirkung des Mittels in schon 3 procentiger Lösung. Als ein Phantomkind faulig zu werden anfing, gelang es Strassmann durch 24 stündiges Einbringen des Präparates in 3 procentiges Lysoform, jeden Geruch zu beseitigen und die Fäulniss zu sistiren. Eine von Dr. Vertun in dieser Arbeit mitgetheilte Tabelle zeigt die hohe desinfectorische Kraft des Mittels. Um ein Beispiel hieraus anzuführen, genügte schon eine nur 10 Minuten lange Einwirkung einer 5 procentigen Lösung, um Proteus vulgaris zu vernichten; ferner: eine Sublimatlösung 1 pro Mille leistete danach bei Staph. aur. in 1 Stunde dasselbe, wie Lysoform 3 procent. in 2 Stunden.

In der Sitzung vom 25. Mai 1900 der Gesellschaft für Geburtshülfe und Gynäkologie zu Berlin empfiehlt Strassmann[3] ferner das Mittel namentlich zur Händedesinfection (2 bis 4 Procent) und zur Scheidenspülung (1 Procent); es mache eine Einfettung vollständig entbehrlich,

[1] Strassmann, *Die Therapie der Gegenwart.* 1900. S. 349 ff.

[2] Derselbe, Bemerkungen zur Händedesinfection, insbesondere über Lysoform. *Centralblatt für Gynäkologie.* 1901. Nr. 11.

[3] *Ebenda.* 1900. Nr. 28. S. 736.



sei vollkommen reizlos und könne auch in stärkeren als den angegebenen Concentrationen ohne Schaden verwendet werden. Der Preis solle ungefähr gleich dem des Lysols gesetzt werden.

Auch Dührssen[1] empfiehlt in seinem Vademecum das Lysoform sowohl zur Einfettung bei combinirter Untersuchung, wie zur Desinfection der Umgebung der Vulva, der Scheide, der Hände in nur 1 procentiger Lösung wie zur Reinigung der bei Operationen zu verwendenden Gegenstände.

Die Ungiftigkeit und Milde des Lysoforms betont auch Simons[2], sowie die Unschädlichkeit in seiner Einwirkung auf die Haut. Nach stundenlangem Gebrauch von 3 procentigen Lösungen hat Simons nie Sprödigkeit der Haut an den Händen bemerkt. Er empfiehlt das Mittel namentlich auch bei hartnäckigen Cystitiden mit angeblich vorzüglichem Erfolge (in 1 bis 3 procentigen Lösungen), was allerdings sehr für die Ungiftigkeit und Reizlosigkeit des Präparates sprechen dürfte.

[1] Dührssen, *Gynäkolog. Vademecum für Studirende und Aerzte.* 7. Aufl. Berlin 1901.

[2] E. M. Simons, Ueber „Lysoform" *Allgem. med. Central-Zeitung.* 1900. Nr. 66.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien.]
(Vorstand: Prof. R. Paltauf.)

Weitere Untersuchungen über die Pesttoxine.

Von

K. K. Bezirksarzt Dr. **Markl**.

In einer früheren Publication[1] habe ich mitgetheilt, dass in keimfreien Filtraten von Pestbouillonculturen giftige Substanzen nachzuweisen sind, welche bei Mäusen und Ratten eine acute, bei Meerschweinchen und Kaninchen eine protrahirte Intoxication hervorrufen. Diese Substanzen, die ich „Pesttoxine" benannte, wurden durch Einwirkung von höherer Temperatur derart beeinflusst, dass sie selbst in grossen Dosen die sonst sehr empfindlichen weissen Mäuse nicht mehr zu vergiften vermochten und ich schloss daher aus diesem Umstande, dass das Gift durch höhere Temperaturen zerstört wird.

Ferner habe ich gezeigt, dass durch vorsichtige Einverleibung von steigenden Dosen wirksamer Pestfiltrate Mäuse giftfest gemacht werden können, und durch Behandlung einer Katze mit Pestfiltraten konnte ich ein Serum gewinnen, welches die toxische Wirkung der Pestfiltrate bei Mäusen paralysirte.

Ich gelangte schliesslich, in der Voraussetzung, dass die in vitro gebildeten Gifte auch in inficirtem Organismus von den Pestbacillen erzeugt werden, zu dem Schlusse, dass ein wirksames Heilserum gegen die Pest nicht nur antiinfectiös, sondern auch antitoxisch wirken müsse.

Zur Begründung dieser Hypothese waren die weiteren Versuche im Laboratorium des K. K. Militär-Sanitäts-Comités im Gange, als anlässlich

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIV. Nr. 18/19.



der Laboratoriuminfection, die sich im Arbeitszimmer der österreichischen Pestcommission ereignete, sämmtliche Arbeiten mit Pestbacillen in Wien über behördlichen Auftrag zeitweise eingestellt werden mussten und erst später wieder im beschränkten Maasse zugelassen wurden.

Dadurch verzögerte sich die vorliegende Arbeit, deren Vollendung mir nur durch das liebenswürdige Entgegenkommen des Vorstandes des staatlichen serotherapeutischen Institutes in Wien, Hrn. Prof. Dr. Paltauf, ermöglicht wurde, der mir alles zu den weiteren Arbeiten Erforderliche in seinem Institute zur Disposition stellte; ich fühle mich gedrängt, ihm hierfür auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Desgleichen bin ich dem Institutsassistenten Hrn. Dr. R. Kraus für seine Unterstützung bei meinen Arbeiten zu Dank verpflichtet.

I. Giftigkeit der Filtrate und Wirkungen bei Thieren.

Um den Grund der widersprechenden Litteraturangaben über die Giftigkeit der Pestfiltrate aufzuklären, habe ich mehrere Peststämme und bei verschiedenen Thieren wiederholt untersucht.

Sämmtliche untersuchten Stämme waren aus dem Thierkörper seit mehr oder weniger kurzer Zeit isolirt, hoch virulent und lieferten alle fast gleich giftige Filtrate. Eine auffallend hohe Giftigkeit zeigten insbesondere zwei Stämme; der eine *Po.* wurde aus einer Pestpneumonie gezüchtet, der andere *Pg.*, aus Bombay stammend, wurde durch eine Reihe von Meerschweinchen passirt. Die Virulenz des letzteren war, wie aus folgendem Protokolle hervorgeht, eine eminente:

Ratte	56	mit	$^5/_{10\,000\,000}$	Pt-Oese	24stünd. Agarcultur intraper. geimpft. † nach 6 Tagen. Herzblut: Pestcultur.
„	57	„	$^5/_{1\,000\,000}$	„	24stünd. Agarcultur intraper. geimpft. † nach 4 Tagen. Herzblut: Pestcultur
„	58	„	$^5/_{100\,000}$	„	24stünd. Agarcultur intraper. geimpft. † nach 3 Tagen. Herzblut: Pestcultur.
„	59	„	$^5/_{10\,000}$	„	24stünd. Agarcultur intraper. geimpft. † nach 3 Tagen. Herzblut: Pestcultur
Meerschw.	1	„	$^5/_{10\,000\,000}$	„	24stünd. Agarcultur intraper. geimpft. † nach 16 Tagen. Negat. Sectionsbefund. Herzblut: steril.
„	2	„	$^5/_{1\,000\,000}$	„	24stünd. Agarcultur intraper. geimpft. † nach 6 Tagen. Herzblut: Pestcultur.
„	3	„	$^5/_{100\,000}$	„	24stünd. Agarcultur intraper. geimpft. † nach 13 Tagen. Abgekapselte Eiterherde in der Leber. Herzblut: steril.
„	4	„	$^5/_{10\,000}$	„	24stünd. Agarcultur intraper. geimpft. † nach 5 Tagen. Herzblut: Pestcultur.

Der Grad der Giftigkeit der Filtrate war von dem Alter der Cultur, von der Temperatur, bei welcher gezüchtet wurde, bezw. von dem Luftzutritt, sowie von der Wahl der Versuchsthiere abhängig.

Das Maximum der Giftigkeit (für Mäuse) wurde in alten Bouillonculturen, welche bei Zimmertemperatur gestanden hatten, erreicht. Etwas weniger giftig erwiesen sich alte, bei Brüttemperatur gestandene Bouillonculturen, während Filtrate von ganz frischen, 2 bis 8 Tage alten Culturen nur eine geringe Giftigkeit zeigten.

In meiner ersten Publication habe ich erwähnt, dass alte, bei Brüttemperatur gehaltene Culturen sich bei Mäusen als ungiftig erwiesen haben; diese Angabe ist nun dahin richtig zu stellen, dass dies nur dann zutrifft, wenn man unter möglichst beschränktem Luftzutritt in ballonförmigen, bis zum Halse gefüllten Kolben cultivirt; legt man aber Bouillonculturen in weiten Fehrenbach'schen Kolben an, wo eine grosse Berührungsfläche der Culturflüssigkeit mit der Luft gegeben ist, so erreicht man selbst nach wochenlangem Stehen im Thermostaten Culturen, deren Filtrate für Mäuse giftig sind.

Es ist also nicht die Brüttemperatur an und für sich der einzig die Toxine schädigende Moment, wie ich in meiner ersten Publication angenommen habe, sondern die Wärme wirkt nur dann absolut ungünstig auf die Bildung der Toxine, wenn der Luftgehalt des Nährsubstrates ein minimaler ist und das Oberflächenwachsthum der Cultur nahezu vollständig gehemmt wird.

Die Wahl der Versuchsthiere, bezw. die Beobachtungsdauer derselben ist für die Beurtheilung der Giftigkeit der Pestfiltrate von grosser Wichtigkeit.

Wendet man Mäuse als Versuchsthiere an, so kann man rasch und sicher, wie die folgenden Protokolle zeigen, über die Giftigkeit der Filtrate entscheiden.

Filtrate von 24 Stunden alten bei 37° C. bebrüteten Culturen vom Peststamme Po, welche in neutraler, alkalischer und saurer Bouillon angelegt und am 28. XII. an Mäusen geprüft waren, wirkten unsicher:

Neutrale Bouillon				Alkal. Bouillon				Saure Bouillon			
Maus	55	0·1	† 1. I.	Maus	58	0·1		Maus	61	0·1	
„	56	0·2		„	59	0·2	† 8. I.	„	62	0·2	
„	57	0·5		„	60	0·5		„	63	0·5	† 5. I.

Bei Filtraten von 3 Tage alten unter gleichen Bedingungen angelegten Culturen, welche am 30. XII. an Mäuse verimpft wurden, war die Giftwirkung schon regelmässig und deutlich:



Neutrale Bouillon			Alkal. Bouillon			Saure Bouillon		
Maus 64	0.2	† 1. I.	Maus 66	0·2	† 1. I.	Maus 68	0·2	† 2. I.
„ 65	0·5	† 1. I.	„ 67	0·5	† 2. I.	„ 69	0·5	lebt 22. I.

Am 29. I. wurden Filtrate von 4 Wochen alten Pestculturen vom Stamme Po. in alkalischer und schwach saurer Bouillon, einerseits bei Brüttemperatur, andererseits bei Zimmertemperatur gezüchtet, an Mäusen geprüft.

Es erhielten intraperitoneal:

Maus	139	0.01 ccm	alkalische Bouillon, Brüttemperatur	lebt.
„	127	0·05 „		† 30. I.
„	128	0·1 „		† 30. I.
Maus	142	0·01 ccm	saure Bouillon, Brüttemperatur	lebt.
„	130	0.05 „		† 30. I.
„	131	0·1 „		† 30. I.
Maus	145	0·005 ccm	alkalische Bouillon, Zimmertemperatur	† 30. I.
„	146	0·01 „		† 30. I.

Mäuse also reagiren prompt; ähnlich reagiren auch die Ratten, nur lassen diese die an Mäusen eruirbare Abstufung der Giftigkeit der bei Brüt- und der bei Zimmertemperatur gestandenen Culturen nicht wahrnehmen:

Am 8. II. wurden 6 Ratten geimpft mit Pestfiltraten gleicher Provenienz wie im vorigen Falle:

Ratte	11	0·05 ccm	alkalische Bouillon, Brüttemperatur	lebt.
„	12	0.1 „		† 9. II.
„	13	0·5 „		† 9. II.
Ratte	14	0·01 ccm	alkalische Bouillon, Zimmertemperatur	leben.
„	15	0.05 „		
„	16	0.1 „		† 9. II.

Man sieht, dass die minimale tödtliche Dosis bei Ratten sowohl bei Brüttemperatur als bei Zimmertemperatur gezüchteten Culturen die gleiche war, trotzdem die letzteren bei Mäusen eine 10fach stärkere Wirkung hatten als die ersteren.

Ganz anders als Mäuse und Ratten verhalten sich gegenüber den Pesttoxinen Kaninchen und Meerschweinchen. Diese Thiere gehen nur ausnahmsweise schon nach geringen Dosen in kurzer Zeit zu Grunde, zumeist verläuft die Intoxication chronisch, so dass von der Einverleibung des Giftes bis zum Tode mehrere Wochen vergehen können. Will man aber bei Kaninchen und insbesondere bei Meerschweinchen eine acute, innerhalb wenigen Stunden oder Tage zum Tode führende Intoxication hervorrufen, so muss man verhältnissmässig hohe Dosen Toxins anwenden;



dabei geben Giftigkeit der Toxine für Mäuse sowie Alter und Körpergewicht der Versuchsthiere für die Wahl der tödtlichen Dosis keinen sicheren Anhaltspunkt.

Am 10. II. wurden 2 Kaninchen mit $^1/_2$ bezw. 1 ^{ccm} Filtrats einer vier Wochen alten Po-Cultur in alkalischer Bouillon bei Brüttemperatur gezüchtet intraperitoneal eingespritzt: beide Thiere blieben am Leben. Zwei andere Kaninchen erhielten dieselben Mengen Filtrats einer gleich alten, bei Zimmertemperatur gezüchteten Po-Cultur: beide Thiere gingen nach 24 Stunden ein.

Das Filtrat einer 16tägigen, bei Zimmertemperatur gestandenen Pg-Cultur, dessen Dosis letalis für Mäuse 0.01 ^{ccm} betrug, tödtete in Dosen von 0.2 bis 1 ^{ccm} Meerschweinchen nicht, in Dosen von 10 ^{ccm} aber innerhalb 24 Stunden.

Aber nicht nur kleine Laboratoriumthiere, sondern selbst Ziegen kann man mit Pestfiltraten tödten, falls man entsprechende Dosen anwendet; Tauben verhalten sich refractär.

Bei acuter Intoxication äussern die Thiere gesträubtes Haar und verklebte Augen, sie hocken unbeweglich mit gekrümmtem Rücken und zu einander angezogenen Füssen — als wenn sie sich vor der Kälte schützen wollten — in einem Winkel des Käfigs und gehen je nach der Menge des einverleibten Giftes in 6 bis 24 Stunden unter Collapserscheinungen und oft nach lange dauernden Krämpfen ein. Bei Meerschweinchen habe ich sub finem vitae oft heftigen Schüttelfrost unter enormem Sinken der Körpertemperatur (25·7° C. im Mastdarm) beobachtet.

Bei chronischer Intoxication überwiegt das Bild eines fortschreitenden Marasmus ohne sonstige Krankheitserscheinungen; sub finem vitae treten dieselben Symptome, wie bei acuter Vergiftung, zumeist noch deutlicher auf.

Der Obductionsbefund beschränkt sich bei acuter Intoxication auf fettige Degeneration der Leber, bei chronischem Verlaufe findet sich ein hochgradiger Marasmus und Pigmentatrophie der Leber vor.

II. Die Bedingungen der Toxinbildung und die Haltbarkeit der Toxine.

Es wurde bereits erwähnt, dass der Giftigkeitsgrad der Pestfiltrate davon abhängt, ob die Cultur mittels grosser oder geringer Oberfläche mit der atmosphärischen Luft in Berührung steht.

Geradezu ausschlaggebend ist dieser Umstand, wenn man bei Brüttemperatur cultivirt, und es kann, wie aus nachstehendem Protokolle zu ersehen ist, vorkommen, dass man in Filtraten von bei Brüttemperatur in bis zum Halse gefüllten Kolben angelegten Pestculturen keine Gifte nachweisen kann.



Am 13. I. wurden Filtrate von 16 tägigen Po-Culturen, welche einerseits mit geringer, andererseits mit grosser Oberfläche bei Brüt- und Zimmertemperatur standen, an Mäusen geprüft:

Maus	100	erhielt intraper.	0·1 ccm	Filtrat	aërobe Cultur,	† 14. I.
„	101	„ „	0·2 „	„	Brüttemperatur	† 14. I.
„	102	„ „	0·1 „	„	anaërobe Cultur,	leben am
„	103	„ „	0·2 „	„	Brüttemperatur	10. II.
„	104	„ „	0·05 „	„	anaërobe Cultur,	leben am
„	105	„ „	0·1 „	„	Zimmertemperatur	10. II.
„	106	„ „	0·05 „	„	aërobe Cultur,	† 15. I.
„	107	„ „	0·1 „	„	Zimmertemperatur	† 14. I.

Ein weiterer Moment für die Bildung der Toxine liegt in der Cultur selbst.

Die Culturen, mit welchen ich arbeitete, waren sämmtlich aus dem menschlichen Körper isolirte und durch den Thierkörper geschickte Stämme, die ich sodann theils auf Gelatine, theils auf Agar, jedoch immer unter sorgfältiger Vermeidung von höherer, über die Zimmertemperatur hinausgehenden Wärme fortzüchtete.

Ich muss diesem Umstande ein besonderes Gewicht beimessen; in der Ausserachtlassung dieser Vorsichtsmaassregel, wie in der Wahl von ungeeigneten Versuchsthieren und einer ungenügenden Beobachtungsdauer liegt offenbar der Grund, dass es manchen Autoren nicht gelungen ist, in Filtraten von Pestculturen toxische Stoffe nachzuweisen.

Aprioristisch entspricht auch der saprophystischen Lebensweise der Pestbacillen eine niedrigere Temperatur besser als die dauernd hohe Brüttemperatur. So sind Gelatinculturen z. B. nach vielen Monaten noch übertragungsfähig, ohne dass sie an Virulenz und an dem Vermögen, Toxine zu produciren, eine nennenswerthe Abnahme erfahren haben, während Pestculturen, durch längere Zeit bei Brüttemperatur fortgezüchtet, zuerst eine verminderte Toxinproduction, dann aber selbst eine Herabsetzung der Virulenz erfahren.

Die Giftproduction der Pestbacillen hängt nicht direct mit ihrer Infectionsfähigkeit zusammen; trotz Sinkens, ja Verschwindens der Giftproduction in den künstlichen Nährsubstraten bleibt die Cultur virulent und infectiös; allerdings war die Krankheitsdauer dabei meist verlängert.

So sind z. B. einige von meinen Culturen, die über 2 Jahre ohne Einschaltung von Thierpassagen fortgezüchtet wurden, und die ursprünglich sehr wirksame Toxine lieferten (0·005 ccm Dos. letal. min. pro. Maus) bis auf $^1/_{10}$ ihres früheren Toxinwerthes gesunken.

Eine noch bedeutendere Abnahme der Toxinproduction zeigten die bei Brüttemperatur fortgezüchteten Culturen, so z. B. eine Agarcultur des Stammes Po. Während ursprünglich Filtrate einer 4 Wochen alten

Bouilloncultur dieses Stammes schon in Dosen von 0·005 bis 0·01 ccm Mäuse tödteten, brauchte man nach Verlaufe von 2 Jahren 0·2 bis 0.5 ccm des Filtrats derselben Cultur, um Mäuse zu tödten.

Wichtig ist nun dabei der Umstand, dass die Virulenz dieser in künstlichen Nährböden fast atoxisch gewordenen Pestcultur nur insofern abgenommen hatte, dass sich der Tod der inficirten Thiere um einige Tage verzögerte. Die minimale, zur Infection nöthige Dosis der 24 Stunden alten Agarcultur blieb fast unverändert; sie betrug bei der ursprünglichen Cultur $^5/_{10\,000\,000}$ Platinöse intraperitoneal für Mäuse und Ratten (Tod nach 3 Tagen), bei der abgeschwächten Cultur für Mäuse auch $^5/_{10\,000\,000}$ Oese intraperitoneal, jedoch trat der Tod erst nach 9 Tagen ein, und $^5/_{100\,000}$ Oese für Ratten (Tod nach 4 Tagen).

Die Fähigkeit, in vitro Toxine zu bilden, lässt sich jedoch bei atoxisch gewordenen Culturen durch Thierpassage wenigstens theilweise wiedergewinnen. Dieser Umstand, welcher mit den Infectionsversuchen mit atoxischen Culturen in vollem Einklange steht, dürfte dafür sprechen, dass die Pesttoxine echte Stoffwechselproducte sind.

Bei langdauerndem Züchten auf künstlichen Nährböden passen sich die Pestbacillen einer Lebensweise an, bei der die Toxinproduction allmählich abnimmt; kommt der Pestbacillus aber zur Vegetation im lebenden Organismus zurück, so ändert sich mit der Lebensweise auch sein Stoffwechsel derart, dass er wieder Toxin producirt. Aus diesem Grunde gehen wohl die mit atoxischen Culturen inficirten Thiere oft später ein, weil die Fähigkeit, Toxine zu bilden, bei atoxischen Culturen nur allmählich zurückkehrt.

Die Richtigkeit dieser Annahme bestätigt das pathologisch-anatomische Bild, welches bei Infection mit toxischen und atoxischen Culturen zu Tage tritt.

Während bei intraperitonealer Einverleibung von toxischen Culturen die Versuchsthiere sehr rapid zu Grunde gehen, ohne dass es zu einer ausgesprochenen Septicämie zu kommen pflegt (im Blute und in den Organen finden sich nur spärlich Bacillen), sieht man bei Infection mit atoxischen Culturen ein ausgesprochenes Bild der Pestsepticämie mit ungeheuerer Menge von Bacillen im Blute und in den Organen.

Diese Erscheinung ist bei der Annahme, dass die Pesttoxine echte Stoffwechselproducte sind, leicht erklärlich; die in den Thierkörper eingedrungenen atoxisch gewordenen Pestbacillen schädigen nämlich anfangs den Organismus fast gar nicht. Erst bis sie sich der parasitischen Lebensweise wieder angepasst und mit der Toxinproduction begonnen haben, unterliegt der Organismus. Dabei entwickeln sich die Bacillen in grosser Menge und verbreiten sich im Thierkörper.



Anders liegt die Sache bei der Infection mit bereits toxischen Culturen, indem hier gleichzeitig mit dem Eindringen des Keimes in den Körper die Toxinproduction einhergeht. In diesem Falle kommt meist der Pestbacillus nicht zu der massenhaften Vermehrung und allgemeinen Verbreitung, weil der Organismus früher bereits der Toxinwirkung unterliegt.

Dieser Unterschied in dem Verhalten der Giftproduction und in der Infectiosität lässt die Annahme zu, dass die Toxine nicht identisch mit den dem Bacillenkörper zukommenden Giftsubstanzen sind.

Für die Abnahme der Toxinproduction bei lange Zeit (über 2 Jahre) auf künstlichen Nährböden gezüchteten Pestculturen seien einige Beispiele angeführt.

Am 12. VII. erhielten 4 Mäuse das Filtrat einer 3 monatlichen Po-Cultur bei Zimmertemperatur gezüchtet:

Maus	220	0·005 ccm	bleiben am Leben.
„	221	0·01 „	bleiben am Leben.
„	222	0·05 „	bleiben am Leben.
„	223	0·1 „	† 13. VII.

Am 17. IX. erhielten 3 Mäuse das Filtrat einer 5 monatl. Po-Cultur bei Zimmertemperatur gezüchtet:

Maus	238	0·05 ccm	lebt.
„	239	0.1 „	† 18. IX.
„	240	0.5 „	† 18. IX.

Dasselbe Resultat hatte die Einverleibung des Filtrats einer gleich alten Po-Cultur, die bei Brüttemperatur gestanden hat.

Noch weniger wirksam war das Filtrat einer 2 monatlichen, bei Zimmertemperatur gewachsenen Po-Cultur, welches am 19. I. geprüft wurde.

Maus	355	0·01 ccm	leben.
„	356	0·05 „	leben.
„	357	0.1 „	am 21. I. krank, erholte sich jedoch vollständig.

Diese fast atoxisch gewordene Cultur lieferte, durch Meerschweinchenkörper geschickt, wieder giftige Filtrate.

Filtrat 4 wöchentlicher Cultur nach einmaliger Passage am 25. II geprüft:

Maus	390	0·01 ccm	
„	391	0·05 „	
„	392	0·1 „	† 27. II.

Filtrat gleich alter Cultur nach 3 maliger Passage:

Maus	393	0·01 ccm	
„	394	0·05 „	† 27. II.
„	395	0·1 „	† 2. III.



Die Reaction des Nährbodens scheint auf die Bildung der Toxine keinen wesentlichen Einfluss zu haben, doch ist die neutrale Reaction als die günstigste anzusehen, da wenigstens bei frischen Culturen die Giftigkeit in alkalischer und schwach saurer Bouillon immer etwas hinter jener in neutraler Bouillon zurückbleibt.

Eine wesentliche Steigerung der Toxinproduction durch verschiedene Zusätze zur Bouillon konnte ich nicht beobachten; günstig für die Toxinbildung erwies sich die Züchtung in gegen Lackmuspapier neutraler Bouillon mit kleinem Zusatz von normalem Pferdeserum.

Die Giftigkeit der Pestculturfiltrate ist wenig stabil; im Allgemeinen nimmt sie ab je höher sie Anfangs war; so geht die Giftigkeit der wirksamsten Filtrate (0·005 ccm Dos. letal. pro Maus) schon nach einigen Tagen etwas zurück, während sich schwächere Gifte (0·05 bis 0·1 ccm Dos. letal. pro Maus) Wochen lang unverändert halten. Der Rückgang der Giftigkeit ist bei Brüttemperatur viel rascher und intensiver als bei niedriger Temperatur.

Das Gift der Bouilloncultur sowie ihrer Filtrate verliert durch Erhitzen auf 70° die Wirksamkeit für Mäuse. Hier einige Beispiele:

Am 29. I. erhielten:

Maus 139	0·01 ccm	Filtrat 1 Monat alter Po-Cultur		
„ 127	0·05 „		† 30. 1.	
„ 128	0·1 „		† 30. 1.	
„ 149	0·1 „	dasselbe Filtrat durch ¼ Stunde erhitzt		leben.
„ 150	0·5 „			

Am 11. III. erhielten:

Maus 426	0.1 ccm	Toxin 29	† 12. III.
„ 427	0·2 „		† 12. III.
„ 429	0·2 „	Toxin 29 erhitzt	leben.
„ 430	0·3 „		
„ 431	0·5 „		
„ 432	1.0 „		

Am 29. VIII. erhielten:

Maus 567	0·1 ccm	Filtrat	
„ 568	0·2 „		† 30. VIII.
„ 569	0·5 „		† 30. VIII.
„ 559	0·1 „	erhitztes Filtrat	leben.
„ 561	0·5 „		
„ 562	1·0 „		
„ 563	0·1 „	Filtrat erhitzter Cultur	leben.
„ 565	0·5 „		
„ 566	1.0 „		
„ 572	0·2 „	erhitzte Cultur unfiltrirt	leben.
„ 574	1·0 „		



Diese Entgiftung der Pestfiltrate durch Erhitzen besteht jedoch nicht absolut, denn die Giftigkeit für andere Thiere, insbesondere für Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen, bleibt, wie folgende Beispiele lehren, erhalten.

Am 19. XI. erhielten:

Ratte 114	0·5 ccm	Toxin	† 20. XI.
„ 115	1·0 „	Toxin	† 20. XI.
„ 116	0·5 „	dasselbe Toxin erhitzt	† 8. XII.
„ 117	1·0 „	dasselbe Toxin erhitzt	† 4. XII.
Meerschweinchen 23 . . .	7 ccm	Toxin	† 23. XI.
„ 24 . . .	7 „	Toxin erhitzt .	† 26. XI.

Kaninchen II erhielt:
am 9. IX. 5 ccm erhitztes Toxin Nr. 46 subcutan.
„ 20. IX. 10 „ „ „ „ 47 intravenös.
„ 20. IX. 10 „ „ „ „ 48 „
„ 8. X. stark abgemagert, moribund, Coma.
(Wurde durch Verblutung getödtet).

Kaninchen III erhielt:
am 9. X. 1 ccm erhitztes Toxin Nr. 47.
„ 15. X. †.

Kaninchen IV erhielt:
am 22. X. 0·5 ccm Toxin Nr. 47 erhitzt.
„ 31. X. 5·0 „ „ „ 47 „
„ 6. XI. †.

Aus diesen wenigen Beispielen geht hervor, dass die Giftigkeit der Pestfiltrate für Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen durch Erhitzen zwar nicht verloren geht, aber der Verlauf der Intoxication ist ein anderer. Während nicht erhitzte Filtrate in entsprechender Dosirung diese Thiere (insbesondere Ratten) acut tödten, verzögert sich der Tod bei erhitzten Filtraten mehr oder weniger.

Eine acut verlaufende Intoxication giebt es — wie folgendes Beispiel zeigt — bei erhitzten Filtraten selbst bei Anwendung von grossen Dosen nicht.

Versuche vom 3. III.

Ratte	0·02 ccm	Toxin 70	† nach 11 Tagen
„	0.05 „	Toxin 70	† „ 7 „
„	0·1 „	Toxin 70	† „ 8 „
„	0.2 „	Toxin 70	† „ 6 „
„	0·3 „	Toxin 70	† „ 1 Tage.
„	0·05 „	Toxin 70 erhitzt	† „ 7 Tagen
„	0.1 „	Toxin 70 erhitzt	† „ 12 „
„	0.25 „	Toxin 70 erhitzt	† „ 9 „
„	0·5 „	Toxin 70 erhitzt	† „ 10 „
„	5·0 „	Toxin 70 erhitzt	† „ 10 „

Dieser Tausch zeigt auch, dass kleine Mengen Toxins, welche eine acute Vergiftung bei Ratten nicht mehr erzeugen, doch zu einer protrahirten Intoxication führen, und dass auch dieselben Mengen des erhitzten Toxins in ganz analoger Weise wirken.

Die zur acuten Vergiftung nöthige Dosis Toxins ist bei Ratten 15 Mal grösser als die absolute zur chronischen Vergiftung führende Dosis letalis minima.

Man muss aus dem verschiedenen Verhalten der erhitzten Pestfiltrate bei verschiedenen Thieren den Schluss ziehen, dass die Filtrate ein Gemenge von verschiedenen, wenn vielleicht auch verwandten Giften enthalten, von welchen das eine, für Mäuse giftig, durch höhere Temperaturen zerstört wird, während das andere, für Mäuse unwirksame Toxin hitzebeständig ist. Die physiologischen Wirkungen der Pestfiltrate bei verschiedenen Thierspecies dürften nun von den jeweiligen Mengen dieser durch ihr Verhalten gegen höhere Temperatur sich unterscheidenden Toxinen abhängig sein.

III. Giftfestigkeit und Immunisirung.

Durch vorsichtige Einverleibung steigender Dosen von Pestfiltraten lassen sich Mäuse und Ratten giftfest machen, so dass sie eine vielfache Menge der sonst tödtlichen Dosis Toxins reactionslos vertragen. Viel schwieriger ist die Giftfestigkeit der Kaninchen und Meerschweinchen zu Stande zu bringen. Ich habe eine grössere Zahl dieser Thiere zu immunisiren versucht, indem ich ihnen in 14 tägigen Intervallen langsam steigende Mengen Toxins subcutan injicirte. Bald jedoch musste ich diese Versuche aufgeben, nachdem ich bei der grössten Vorsicht ein Thier nach dem anderen verlor. Manche Thiere, welche schon ziemlich grosse Toxinmengen vertrugen, gingen schliesslich doch nach mehr als 2 monatlicher Behandlungsdauer auf eine geringe Steigerung der Toxindosis hin zu Grunde.

Als Beispiel möchte ich je 2 Meerschweinchen und Kaninchen erwähnen, welche zugleich die protrahirte Giftwirkung der Pesttoxine demonstriren:

Meerschweinchen Nr. 33 wurde immunisirt mit Filtraten von alten, bei Zimmertemperatur gezüchteten Pestculturen und erhielt:

am 8. II.	(Körpergewicht)	1 ccm	am 7. V.	= 600 grm	5 ccm
„ 24. II.	= 800 grm	2 „	„ 21. V.	= 700 „	6 „
„ 10. III.	= 700 „	4 „	„ 4. VI.	= 580 „	7 „
„ 10. IV.	= 680 „		„ 6. VII.	= 640 „	5 „
„ 29. IV.	= 620 „		„ 13. VII.	= 500 „	

am 19. VII. †.



Meerschweinchen I erhielt:

am 27. XI. 1898		0·2 ccm	Tox. I
„ 21. II. 1899	= 500 grm	5 „	„ III 1.
„ 26. II.	= 500 „		
„ 4. III.	= 480 „		
„ 5. III.	= 440 „	5 „	„ VI
„ 10. III.	= 460 „	6 „	„ VI
„ 28. III.	= 500 „	7 „	„ VIII
„ 10. IV.	= 500 „	7 „	„ VIII
„ 29. IV.	= 400 „	8 „	„ VIII
„ 7. V.	= 400 „	9 „	„ VIII
„ 21. V.	= 500 „	10 „	„ VIII
„ 4. VI.	= 460 „	11 „	
„ 24. VI. †.			

Kaninchen, weiss, immunisirt mit Filtraten von alten, bei Brüttemperatur gestandenen Culturen:

am 10. II.		0·5 ccm
„ 24. II.	= 1500 grm	1 „
„ 5. III.	= 1600 „	2 „
„ 10. III.	= 1520 „	3 „
„ 28. III.	= 1600 „	5 „
„ 10. IV.	= 1800 „	6 „
am 29. IV.	= 1740 grm	7 ccm
„ 7. V.	= 1800 „	8 „
„ 21. V.	= 1840 „	9 „
„ 4. VI.	= 1790 „	10 „
„ 24. VI. †.		

Kaninchen, grau, immunisirt mit Filtraten von alten, bei Zimmertemperatur gezüchteten Culturen:

am 21. II.	= 1900 grm	0·5 ccm
„ 24. II.	= 1900 „	1 „
„ 28. II.	= 2000 „	
„ 1. III.	= 1940 „	
„ 4. III.	= 1950 „	
„ 5. III.	= 1980 „	2 „
„ 6. III.	= 1880 „	
„ 8. III.	= 1860 „	
„ 9. III.	= 1880 „	
„ 10. III.	= 1820 „	3 „
am 11. III.	= 1980 grm	
„ 18. III.	= 2100 „	
„ 28. III.	= 2100 „	5 ccm
„ 10. IV.	= 2140 „	6 „
„ 29. IV.	= 2030 „	7 „
„ 7. V.	= 2000 „	8 „
„ 21. V.	= 2100 „	9 „
„ 4. VI.	= 1870 „	10 „
„ 3. VII. †.		

Es scheint, dass die Toxine bei Meerschweinchen und Kaninchen nur sehr langsam wirken und dass sich die Giftwirkung der einzelnen, wenn auch zeitlich ziemlich von einander getrennten Einspritzungen cummulirt. Es dürfte bei diesen Thieren die Wirkung der hitzebeständigen Gifte prävaliren, gegen welche eine Festigkeit sehr schwer zu erreichen ist.

Ziegen lassen sich gegen die Toxine scheinbar ohne wesentliche Gesundheitsstörung ausser vorübergehender Temperaturerhöhung und verminderter Fresslust in den ersten Stunden nach der Injection immunisiren. Aber man muss trotz des anscheinenden Wohlbefindens dieser Thiere bei

der Behandlung mit der Steigerung der Dosen äusserst vorsichtig sein. Zu dieser Erfahrung bin ich durch den Verlust zweier erwachsenen Ziegenböcke gelangt.

Der eine wurde mit Filtraten von alten Bouillonculturen intraperitoneal injicirt. Ich will die Menge des eingespritzten Toxins durch die Zahl der für Mäuse tödtlichen einfachen minimalen Dosen ausdrücken, weil man sich sonst bei der wechselnden Giftigkeit der Pestfiltrate über die absolute Menge des einverleibten Giftes keine Vorstellung machen könnte; dabei wird die Dosis letalis minima pro Maus als Toxineinheit bezeichnet. Ich bin mir der Unzulänglichkeit dieser Bezeichnung wohl bewusst, da die Wirksamkeit der Pesttoxine bei Ziegen gewiss eine andere ist als bei Mäusen; aber vorläufig kann ich keine bessere angeben.

Dieser Ziegenbock erhielt nun im Laufe von 4 Monaten in 14tägigen Zeitabschnitten im Ganzen 24138 Toxineinheiten, also eine Menge Toxins, welche zur Tödtung von 24138 Mäusen hinreichen würde.

Nach 4wöchentlicher Pause, innerhalb welcher ein Probeaderlass gemacht worden war, wollte ich die Immunisirung beschleunigen und injicirte wirksamere Toxine, welche zwar nur $^2/_3$ der zuletzt injicirten Toxinmenge pro Injection betrugen, aber eine doppelte Menge des Mäusegiftes enthielten. Das Thier schien auch diese Behandlung gut zu vertragen, so dass ich mich entschloss, anstatt in 14tägigen in 7tägigen Zwischenräumen zu injiciren. Aber schon der erste Versuch hat meine Uebereilung gestraft. Der Ziegenbock, welcher binnen 4 Wochen 47000 T.-E. anstandslos vertragen hat, reagirte plötzlich auf die letzte Injection (6000 T.-E.) mit schweren Krankheitssymptomen.

Am Tage nach der Injection lag der Bock mit tetanisch gestreckten, steifen Gliedmaassen und aufrecht gehaltenem Kopfe schwer krank darnieder. Temperatur 39·8° C.

Durch 3 Tage war der Krankheitszustand unverändert; Temperatur zwischen 39·1 und 39·5° C.

Nachdem sich im Laufe des dritten Tages Symptome von Lungenödem einstellten und das Thier als unbedingt verloren anzusehen war, habe ich es mittels Chloroform getödtet, um wenigstens das Blut von ihm zu gewinnen.

Die Section ergab: Aelteres abgesacktes Exsudat mit leicht getrübter Flüssigkeit, nebst geringen frischen Fibrinauflagerungen im Peritoneum. Milz klein, Organe normal.

Die Exsudatflüssigkeit erwies sich steril, ein mit 1 ^{ccm} derselben injicirtes Meerschweinchen ging nach 8 Tagen mit negativem Sectionsbefunde ein. —



Der andere Ziegenbock wurde vorerst mit Filtraten von frischen, bei Brüttemperatur gezüchteten Bouillonculturen, später mit Filtraten von alten, bei Zimmertemperatur gewachsenen Culturen immunisirt.

In der ersten Hälfte der Behandlung, in welcher Filtrate von frischen Culturen in längeren Intervallen intraperitoneal injicirt wurden, erhielt das Thier, und zwar innerhalb $3^1/_2$ Monate, 2468 T.-E.

Nach 2 monatlicher Pause, während welcher ein Probeaderlass gemacht worden war, wurde mit der Injection der Filtrate von alten Culturen (Zimmertemperatur) angefangen, und zwar in Zwischenräumen von 14 Tagen und darüber.

In dieser Zeitperiode, welche 5 Monate dauerte, wurden **14520** T.-E. injicirt. Die letzte Injection dieser Periode allein betrug **3200** T.-E. Sodann folgte eine Pause von $1^1/_2$ Monaten, worauf das Thier wieder eine Injection von 333 T.-E. und dann 7 Tage später eine solche von 1000 T.-E. erhielt.

Am nächsten Tage wurde das Thier todt aufgefunden.

Dieser Fall überraschte mich sehr; es war mir zwar schon bekannt, dass die Giftfestigkeit gegen die Pesttoxine nicht lange Zeit andauert, trotzdem konnte ich aber nicht voraussetzen, dass ein Thier, welchem bereits 16988 T.-E. einverleibt worden waren, nach einer $1^1/_2$ monatlichen Pause nicht mehr 42 Procent der bei der letzten Injection einverleibten Giftmenge, d. i. 1333 T.-E., welche noch dazu in 2 Portionen binnen 8 Tagen eingespritzt wurden, vertragen werde.

Aus dem Sectionsprotokolle möchte ich nur die Blutungen an der Leberoberfläche, in der Lunge und am Endokard hervorheben. (Siehe Protokolle.)

Protokoll I.

Junger schwarzer Bock, 11 kg schwer, wurde immunisirt mit Filtraten von alten Bouillonculturen und bekam:

19. VI.	1 ccm	2 monatliche Cultur	subcutan	. . . .	10	T.-E.[1]
26. VI.	10 „	„ „	„	. . . .	100	„
3. VII.	20 „	„ „	„	. . . .	200	„
17. VII.	5 „	„ „	intraperit.	. . . .	50	„
24. VII.	10 „	„ „	„	. . . .	100	„
31. VII.	10 „	$3^1/_2$ monatliche „	„	(Dos. let. = 0·007)	1428	„
14. VIII.	50 „	24 stündige „	„	(D. l. = 0·2) . .	250	„
28. VIII.	20 „	$4^1/_2$ monatliche „	„	(D. l. = 0·04) . .	500	„
1. IX.	50 „	20 tägige „	„	(D. l. = 0·05) . .	1000	„
18. IX.	150 „	6 wöchentliche „	„	(D. l. = 0.02) . .	7500	„
28. IX.	300 „	„ „	„	(D. l. = 0·03) .	10000	„
16. X.	Körpergewicht = **14·9** kg.					
16. X.	300 ccm	6 wöchentliche Cultur	„	(D. l. = 0·1) .	3000	„
					24138	T.-E.

[1] Toxin-Einheit = Dosis letalis minima pro Maus.

3. XI. 1898. **Probeaderlass. Serum I.**

		Latus	24138 T.-E.
27. XI.	200 ccm Tox. I	(Dos. let. = 0·01) . . .	20000 „
11. XII.	230 „ „ I	. . . .	23000 „
1. I. 1899.	200 „ „ III	(Dos. let. = 0·05) . . .	4000 „
8. I.	300 „ „ III	. . . .	6000 „
			77138 T.-E.

9. I. Das Thier liegt mit tetanisch gestreckten, steifen Füssen, Kopf in die Höhe, schwer krank darnieder; Temperatur 39·8° C.
10. I. Zustand unverändert, Temperatur 39·1° C.
11. I. Derselbe Zustand, Temperatur 39·5° C., Lungenödem, Exitus.

Obductionsbefund: Aelteres abgesacktes Exsudat in der Bauchhöhle mit leicht trüber Flüssigkeit; geringe frische Fibrinauflagerungen am Peritoneum. Milz klein, Organe normal. Aus dem mit Blut stark gefüllten Herzen wurde das Blut zur Gewinnung von Serum (Serum III) steril entnommen.

Die Exsudatflüssigkeit erwies sich steril; ein mit 1 ccm derselben intraperitoneal geimpftes Meerschweinchen ging nach 8 Tagen mit negativem Sectionsbefunde ein. Das Blutserum agglutinirt die Pestculturen im hängenden Tropfen und in vitro. Die mit dem zuletzt injicirten Toxin III intraperitoneal und subcutan geimpften Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen gingen nach Dosen von 0·05 bezw. 5 bezw. 2 ccm in 24 Stunden ein.

Protokoll II.

Junger brauner Bock, 13·7 kg schwer, immunisirt zuerst mit Filtraten von frischen, bei Brüttemperatur gewachsenen Bouillonculturen, später mit Filtraten alter, bei Zimmertemperatur gehaltenen Bouillonculturen.

3. VII.	5 ccm	24stündige Cultur	(Dos. let. 0·5 ccm)	subcutan	10	T.-E.
17. VII.	5 „	„ „		intraperit.	10	„
24. VII.	10 „	„ „		„	20	„
31. VII.	20 „	„ „		„	40	„
14. VIII.	100 „	„ „		„	200	„
28. VIII.	150 „	8tägige „		„	{ 300	„
3. IX.	180 „	48stündige „		„	{ 360	„
26. IX.	170 „	24stündige „	(Dos. let. 0·7 ccm)	„	{ 243	„
28. IX.	200 „	„ „	(„ „ 0·7 „)	„	{ 285	„
16. X.	Körpergewicht = 18·3 kg.					
22. X.	300 ccm	24stündige Cultur	(„ „ 0·3 „)	„	1000	„
					2468	T.-E.

3. XI. 1898. Probeaderlass. Serum II.

22. XII.	160 ccm Toxin Ib	. . . .	320 T.-E.
8. I. 1899.	330 „ „ IIb	. . . .	660 „
24. I.	120 „ „ V	. . . .	240 „
			3688 T.-E



				Latus	3 688 T.-E.
6. II.		10 ccm	Toxin	(Dos. let. 0·01 ccm) . . .	1000 „
16. II.		50 „	„	(„ „ 0·1 „) . . .	500 „
26. II.		100 „	„ VII	(„ „ 0·1 „) . . .	1000 „
10. III.		50 „	„ VIII	(„ „ 0·05 „) . . .	1000 „
28. III.	1 Monat Pause	100 „	„ VIII	. . . .	2000 „
29. IV.		100 „	„ 18	(Dos. let. 0·05 ccm) . . .	2000 „
7. V.		130 „	„ 18	. . . .	2600 „
21. V.	$1^1/_2$ Mon. Pause	160 „	„ 18	. . . .	3200 „
					16 988 T.-E.
6. VII.	$1^1/_2$ Mon. Pause	100 „	„	(Dos. let. 0·3 ccm)	333 „
13. VII.	7 tägige Pause	100 „	„	(„ „ 0·1 „)	1000 „
14. VII.	Exitus.				

Obductionsbefund: Verwachsungen am Peritoneum, einige frische Fibringerinnsel und spärliches klares peritonitisches Exsudat, nekrotische Herde im Gekröse (gelatinöse Degeneration), Hyperämie der Bauchorgane, Blutungen an der Leberoberfläche, Milz klein, Nebennieren blass, das Herz schlaff und dilatirt, mit halbgeronnenem Blut gefüllt, am Endocard Ecchymosen. In beiden Pleurahöhlen spärliches Transsudat, acutes Lungenödem Hämorrhagien in dem Lungengewebe.

Das peritonitische Exsudat erwies sich steril, das Herzblut dagegen zeigte Verunreinigung und konnte daher zur Serumgewinnung nicht benutzt werden.

IV. Die Wirkung des antitoxischen Serums.

Von den beiden Ziegenböcken wurden 3 Sera gewonnen; 2 während des Lebens durch Aderlass, 1 post mortem.

Das erste Serum (Ser. I. vide Prot. III) 17 Tage nach der letzten Injection von dem ersterwähnten Bock, der bereits 24 138 T.-E. erhalten hatte, gewonnen, schien zwar in Dosen von 0·1 ccm die einfache für Mäuse tödtliche Dosis Toxins zu paralysiren, indem die mit 0·1 bis 0·2 ccm Serum präventiv oder mit dem Toxin zugleich geimpften Thiere nicht eingingen. Dagegen gingen Mäuse bei Anwendung grösserer Mengen Serums (0·5 ccm) unter gleichzeitiger Einverleibung von Toxinen in gleicher Zeit wie die Controlthiere zu Grunde.

Dieses Verhalten des Serums erweckte den Anschein, dass demselben zwar eine antitoxische Kraft innewohne, neben dieser aber eine andere Substanz vorhanden sei, welche in grösserer Menge für Mäuse tödtlich wirkt, so dass nur solche Serummengen, bei welchen letztere noch nicht wirksam ist, einen antitoxischen Effect zeigten.



Das zweite Serum, welches von demselben Thiere (Ser. III. Prot. IV) anlässlich der Obduction (3 Tage nach der letzten Injection) gewonnen wurde, zeigte eine deutliche antitoxische Wirkung bei Mäusen und Ratten, ohne in grösseren Mengen den Mäusen zu schaden; 0·2 ccm dieses Serums schützten sowohl präventiv als auch mit Toxin gleichzeitig einverleibt Mäuse und 1 ccm die Ratten gegen die minimale tödtliche Dosis Toxins. Ebenso zeigten 3 bis 5 fache Multipla der minimalen schützenden Dosis Serums eine das Gift vollständig paralysirende Wirkung gegen entsprechende Multipla Toxins (siehe Prot. IV. S. 418, Maus 114—115).

Auch gegen die Infection war dieses Serum von immunisirender Wirkung, indem 4 ccm Serum den Tod von nachher inficirten Ratten um 2 Tage verzögerten. Aber die antiinfectiöse Wirkung dieses antitoxischen Pestserums war viel geringer als jene, die Wassermann bei antitoxischem Pyocyaneus-Serum beobachtet hatte.

Es ist zu bemerken, dass dieses Serum während der durch die letzte Toxininjection hervorgerufenen Reaction gewonnen wurde, nachdem das Thier im Ganzen 77138 T.-E. erhalten hat.

Von dem anderen Ziegenbocke konnte leider nur ein einziges Serum (Nr. II) gewonnen werden, nämlich das durch den Aderlass 3 Wochen nach der letzten Injection. Dieses Thier erhielt bis zum Aderlasse 2468 T.-E. und wurde in dieser Periode ausschliesslich mit Filtraten von frischen Bouillonculturen behandelt.

Das Serum wirkte antitoxisch gegenüber Filtraten von frischen Pestculturen, indem 0.2 ccm Serum die einfache tödtliche Dosis Toxins (0·5 ccm) paralysirte.

Viel weniger wirksam war dieses Serum gegen Filtrate von alten Pestculturen; die mit Serum behandelten Mäuse überleben zwar um einige Tage die Controlthiere, welche Toxine ohne Serum erhielten, man war jedoch selbst durch Anwendung von grossen Serummengen nicht im Stande, die Thiere vor dem Tode zu retten.

Zur Erläuterung der Wirkung der besprochenen Sera lasse ich die Versuchsprotokolle Nr. III und IV folgen.

Protokoll III.

Antitoxische Wirkung der Sera I und II.

Serum I, Filtrate von alten Culturen.

Am 17. XI. Maus 16 . . . . . . 0·2 ccm } Ser. I, 24 St. nach- lebt.
„ 17 . . . . . . 0·5 „ } her je 0·2 Tox. A. † 21. XI.

	Maus	6	Controlthiere		0·05 Tox. A.	lebt.
	„	7			0·1 „	† 19. XI.
Am 6. XI.	„	3	. . . . . .	0·1 „ Ser. I +	0·1 Tox. B.	† 17. XI.
	„	4	. . . . . .	0·1 „ „ +	0·05 „	lebt.
	„	1	Controlthiere		0·05 „	† 10. XI.
	„	2			0·1 „	† 7. XI.

Serum II, Filtrate von frischen Culturen.

Am 17. XI.	Maus	18	. . . . . .	0·2 ccm	Ser. II, 24 St. nachher je 0·5 Tox. (3 täg. Cultur)	lebt.
	„	19	. . . . . .	0·5 „		lebt.
	„	12	Controlthiere		0·2 Tox. (3 täg. C.)	lebt.
	„	13			0·5 „	† 19. XI.

Serum II, Filtrate von alten Culturen.

Am 28. XI.	Maus	31	. . . . . .	0·3 ccm	Ser. II, 24 Stunden später je 0·1 Tox. I	† 7. XII.
	„	32	. . . . . .	0·5 „		† 7. XII.
	„	35	Controlthier		0·1 „	† 29. XI.
	„	36	. . . . . .	0·3 „ Ser. II +	0·1 „	† 7. XII.
	„	39	. . . . . .	1·0 „ „ +	0·1 „	† 7. XII.

Protokoll IV.

Vier Mäuse erhielten am 17. I. das Serum Nr. III (vom schwarzen Bock) präventiv und 24 Stunden nachher das Pesttoxin III c intraperit. einverleibt; 2 Controlmäuse erhielten nur das Toxin III c.:

Maus	108	. . . . . .	Serum 0·5 ccm	Toxin 0·05 ccm	blieben während d. Beobachtungszeit bis 10. II. am Leben.
„	109	. . . . . .	„ 0·5 „	„ 0·1 „	
„	110	. . . . . .	„ 0·2 „	„ 0·05 „	
„	111	. . . . . .	„ 0·2 „	„ 0·1 „	Exitus 18. I.
„	112	Controlthier		„ 0·05 „	„ 18. I.
„	113	„		„ 0·1 „	„ 18. I.

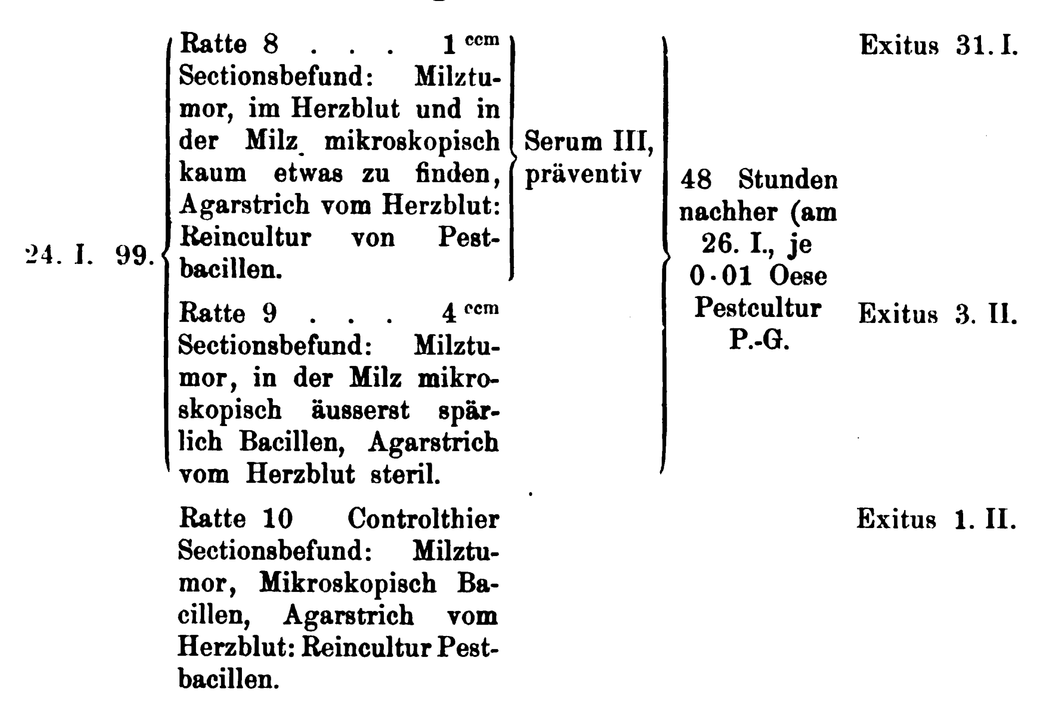
Es schützte daher 0.2 ccm Serum III gegen die 24 Stunden später einverleibte minimale tödtliche Dosis Toxins; desgleichen war das Gemisch von Serum und Toxin in diesem Verhältnisse unschädlich:

Maus	114	1·0 ccm	Gemisch von Ser. III und Tox. III c im Verhältnisse von 0.2 : 0·05. Beide leben am 10. II.
„	115	0·6 „	

Ratten man konnte durch 1 ccm Serum III gegen die 48 Stunden später einverleibte minimale tödtliche Dosis Toxins schützen.

10. II.	Ratte 18	0·5	Serum III, präventiv.	12. II.	0.1 Tox.	Exitus 13. II.
	„ 19	1·0		„	0·1 „	
	„ 20	2·0		„	0·3 „	
	Controlthier			„	0·1 „	Exitus 13. II.

Präventive Wirkung des Serums III bei Infection.



24. I. 99.	Ratte 8 . . . 1 ccm Sectionsbefund: Milztumor, im Herzblut und in der Milz mikroskopisch kaum etwas zu finden, Agarstrich vom Herzblut: Reincultur von Pestbacillen.	Serum III, präventiv	48 Stunden nachher (am 26. I., je 0·01 Oese Pestcultur P.-G.	Exitus 31. I.
	Ratte 9 . . . 4 ccm Sectionsbefund: Milztumor, in der Milz mikroskopisch äusserst spärlich Bacillen, Agarstrich vom Herzblut steril.			Exitus 3. II.
	Ratte 10 Controlthier Sectionsbefund: Milztumor, Mikroskopisch Bacillen, Agarstrich vom Herzblut: Reincultur Pestbacillen.			Exitus 1. II.

Obwohl die vorerwähnten Versuche wegen vorzeitigen Todes der beiden Ziegenböcke nicht ganz nach meinem Wunsche verfolgt werden konnten, kann man doch aus denselben entnehmen, dass das Serum von mit Pestfiltraten behandelten Thieren, im geeigneten Zeitpunkte entnommen, gegen die für Mäuse wirksamen Pesttoxine antitoxische Wirkungen ausübt.

Nun ist interessant die Thatsache, dass man im Stande ist, selbst durch die Behandlung der Thiere mit für Mäuse vollkommen unwirksamen, durch die Hitze entgifteten Pestfiltraten ein antitoxisches Serum zu gewinnen.

Diese Thatsache beweist am besten die nahe Verwandtschaft der beiden in Pestfiltraten vorkommenden Toxine.

Ein solches Serum gewann ich vom Kaninchen Nr. II (s. Seite 410); 0·2 ccm dieses Serums paralysirte die 5 fache tödtliche Dosis Toxins und hatte selbst 0·7 ccm Serum keine toxische Wirkung für Mäuse, trotzdem das Serum sub finem vitae eines der Intoxication unterliegenden Thieres gewonnen worden war.

Versuch vom 10. X.: 7 Mäuse erhalten Gemische des Serums von Kaninchen II und Toxins Nr. 49 in verschiedenem Verhältnisse intraperitoneal: 2 Mäuse erhalten das Toxin allein:

Maus	648	0·1 Serum	+	0.1 Toxin		leben.
„	649	0·2 „	+	0·1	„	leben.
„	650	0·5 „	+	0.1	„	leben.
„	651	0.7 „	+	0·1	„	leben.
„	659	0·2 „	+	0·5	„	leben.
„	660	0·1 „	+	0·2	„	leben.
„	661	0·5 „	+	0·5	„	leben.
„	652			0·1	„	† 11.X.
„	653			0.1	„	† 11.X.

Dieses Serum konnte auch bei Infection mit Pestbacillen den Tod hinausschieben; eine am 29. X. mit $5/_{1000}$ Platinöse Pg.-Cultur, d. i. mit der 100 fachen zur Infection sicher hinreichenden Dosis intraperitoneal inficirte und 24 Stunden nachher mit 3 ccm Serum behandelte Ratte starb am 2. XI. an Pest, während das Controlthier um 24 Stunden früher der Infection unterlag.

Die beim Kaninchen II gemachte Beobachtung, dass es möglich ist, selbst mit für Mäuse ungiftigen Filtraten ein für Mäuse gegen giftige Filtrate antitoxisch wirkendes Serum zu gewinnen, hat sich auch durch Behandlung eines Pferdes mit erhitzten Bouillonculturen bestätigt. Ich werde auf diese Thatsache noch später zurückkommen.

V. Combinirte Immunisirung.

Nach den Ziegenböcken nahm ich die Immunisirung einer erwachsenen Ziege in Angriff. Nachdem das Thier vorerst durch subcutane Einspritzung von Toxinen vorbehandelt war und innerhalb 4 Monaten 4980 T.-E. erhalten hat, wurde mit der Immunisirung mit Aufschwemmungen von bei 65° C. abgetödteten Agarculturen angefangen, welche nebst den Toxinen in steigender Menge subcutan einverleibt wurden.

Die Injectionen erfolgten in 8 tägigen Intervallen; so lange nur Toxine eingespritzt wurden, waren an der Ziege keine besonderen Krankheitserscheinungen zu merken. Die Körpertemperatur stieg allerdings nach jeder Injection auf 39·4 bis 40·0° C., doch dauerte dieser Zustand, innerhalb welchen auch die Fresslust vermindert war, höchstens 1 bis 2 Tage. Eine Abmagerung der Ziege war während dieser Zeit ebensowenig wie bei den Ziegenböcken, welche bis zum Tode wohlgenährt blieben, zu erkennen. Sobald ich jedoch mit der Einspritzung von abgetödteten Agarculturen anfing, stellte sich mit steigenden Dosen eine deutliche Abmagerung ein, das Fieber stieg jedesmal über 40° C., die Verminderung der Fresslust dauerte 3 bis 4 Tage an und an den Injectionsstellen bildeten sich Infiltrate aus, welche aber nie in Eiterung übergingen, sondern sich im Laufe der Zeit fast vollständig resorbirten.

Trotz dieser eingreifenden Wirkungen, welche die Immunisirung auf die Ziege ausübte, war der Gesundheitszustand derselben ein befriedigender, so dass ich nach Ablauf der Reaction fortfahren konnte.

Die Ziege stand im Ganzen 10 Monate in der Behandlung, innerhalb welcher Zeit 6 Aderlässe gemacht wurden (s. Protokoll V). Durch einen unglücklichen Zufall ging auch dieses Thier zu Grunde.

Die subcutane Einspritzung von abgetödteten Pestculturen rief, wie bereits erwähnt, Infiltrate hervor, welche sich nur langsam resorbirten. Um diesem Uebelstande vorzubeugen, habe ich eine intravenöse Injection (per venam auricul.) versucht, ohne aber die Injectionsflüssigkeit durch Filtriren von den gröberen Partikelchen zu befreien. Diese Ausseracht-lassung hat den Tod der Ziege veranlasst. Sie starb 5 Stunden nach der Injection an Lungenödem. Eine Intoxication halte ich für ausgeschlossen, da die Ziege schon viel grössere Mengen abgetödteter Culturen subcutan vertragen hat und da auch ein Kaninchen, welches 5 ccm desselben Materiales intravenös erhielt, in den ersten Tagen nach der Injection keine Krankheitssymptome äusserte und erst nach 9 Tagen einging. Desgleichen ist eine Luftembolie auszuschliessen, bei welcher der Tod unmittelbar nach der Injection eintritt.

Der Vorgang bei der Immunisirung ist aus dem nachfolgenden Protokolle ersichtlich.

Protokoll V.

Erwachsene Ziege wurde immunisirt durch subcutane Einspritzung von Toxinen und bei 65° C. abgetödteten Pestbacillen.

19. VII.	2 ccm	Toxin 18 (D. l. = 0.1)	20	T.-E.
3. IX.	3 „	„ 18	30	„
11. IX.	5 „	„ 18	50	„
17. IX.	8 „	„ 18	80	„
24. IX.	10 „	„ 18	100	„
1. X.	20 „	„ 18	200	„
8. X.	3 „	„ XI (D. l. = 0·01)	300	„
17. X.	4 „	„ XI	400	„
22. X.	5 „	„ XI	500	„
29. X.	8 „	„ XI	800	„
5. XI.	10 „	„ XI	1000	„
12. XI.	15 „	„ XI	1500	„
19. XI.	20 „	„ XI + 1 Agarcultur	2000	„
26. XI.	25 „	„ XI + 2 Agarculturen	2500	„
3. XII.	115 „	„ XXII (D. l. 0·05) + 3 Agarc.	2300	„
			11780	T.-E.

10. XII. (7 Tage nach der letzten Injection) Probeaderlass Serum I B.

18. XII. (15 Tage nach der letzten Injection) Probeaderlass Serum II B.



		Uebertrag	11780 T.-E.
18. XII.	10 ccm Toxin XXII + 4 Agarculturen	200	„
24. XII.	30 „ „ XIX (D. l. = 0·1) + 5 Agarc.	300	„
3. I.	60 „ „ XIX + 6 Agarculturen 4. I. Temperatur 40·1	600	„
7. I.	40 „ „ XIX . . . . 8. I. Temperatur 39·3	400	„
14. I.	110 „ „ XIX + 7 Agarculturen	1100	„
21. I.	125 „ „ XXIV (D. l. = 0·1) + 8 Agarc.	1250	„
28. I.	100 „ „ XXV (D. l. = 0·2) + 10 Agarc.	500	„
4. II.	50 „ „ XXVII (D. l. = 0·1) + Bodensatz einer 5 wöchentlichen Londonercultur in 200 ccm Bouillon. 5. II. Temperatur 40·5° C.	500	„
13. II.	50 ccm Toxin XXVII + 12 Agarculturen	500	„
21. II.	100 „ „ (D. l. = 0·2) + Bodensatz derselben, 2 Mon. alten Cultur in 200 ccm Bouillon	500	„
4. III.	Aderlass (11 Tage nach der letzten Injection) Serum III B.		
18. III.	Aderlass (25 Tage nach der letzten Injection) Serum IV B.		
18. III.	50 ccm Toxin XXX (D. l. 0·05) + 10 Agarc.	1000	T.-E.
25. III.	50 „ „ XXXII (D. l. 0.2) + 1 Flasche Agarcultur + Bodensatz von Bouillonc. 32	250	„
1. IV.	80 ccm Toxin XXXIII (D. l. 0·2) + 1 Flasche Agarcultur + Bodensatz von Bouillonc. 33	400	„
8. IV.	80 ccm Toxin XXXII + 1 Flasche Agarcultur + Bodensatz von einer Bouilloncultur	400	„
15. IV.	100 ccm Toxin XXXI (D. l. 0·1) + 2 Flaschen Agarcultur	1000	„
18. IV.	Aderlass (3 Tage nach der letzten Injection) Serum V.		
22. IV.	3 Agarflaschen		
11. V.	Aderlass (4 Wochen nach der letzten Toxin- und 3 Wochen nach der letzten Agarcultur-injection) Serum VI.		
		20680	T.-E.
13. V.	je 40 ccm Toxin (D. l. 0.1) und Bodensatz von 1 Monat alter Po-Cultur Passage 4 intravenös (per venam auricul.).		

Bei der Injection war das Thier ganz ruhig; ca. 10 Minuten nach Injection stellten sich schwere Krankheitssymptome, insbesondere exspiratorische Dyspnoë ein. Das Thier verendete noch am selben Tage (5 Stunden nach der Injection).

Obduction: Lungenödem.

Im November 1899 wurde in der Abtheilung des k. k. serotherapeutischen Instituts an der Triester Strasse behufs Darstellung von Pestserum die Immunisirung von Pferden in Angriff genommen.



Zwei Pferde (Cicero und Cid) wurden mit abgetödteten frischen Agarculturen, ein Pferd (Cato) mit abgetödteten 2 bis 4 Wochen alten Bouillonculturen behandelt.

Das zur Immunisirung erforderliche Material wurde aus hochvirulenten, den Thierkörper eben passirten Pestculturen in einem eigenen zu diesem Zwecke adoptirten Laboratorium dargestellt.

Zur Abtödtung der Bacillen wurden die Culturen, bezw. deren Aufschwemmungen in alkalischer Bouillon im Wasserbade einer Temperatur von 65° C. durch 2 Stunden ausgesetzt, und erst nachdem ihre Sterilität durch Uebertragung auf Agar erwiesen wurde, hat man sie zur Behandlung der Pferde verwendet. Die Injectionen erfolgten in 8 tägigen Zeitabschnitten intravenös; die auf einmal injicirte Menge Cultur ist bis August v. J. beim Cato auf 200 ccm Bouilloncultur, beim Cicero auf 300 ccm Aufschwemmung von 4 Literflaschen Agarculturen gestiegen.

Die Pferde reagirten auf jede Einspritzung mit Temperaturerhöhung und verminderter Fresslust. Manchmal taumelten die Thiere nach der Injection und in der Nasenschleimhaut fanden sich zahlreiche Blutungen vor.

Unter diesen Symptomen, zu welchen sich noch ein acutes Lungenödem hingezugesellte, ist ein Pferd (Cid) der Behandlung erlegen; die zwei anderen befinden sich wohl und wurden wiederholt Aderlässe gemacht.

VI. Die Wirkung des antiinfectiös-antitoxischen und des rein antiinfectiösen Serums.

Bei der mit Toxinen und abgetödteten Culturen zugleich immunisirten Ziege wurden die zwei ersten Aderlässe nach einander gemacht, und zwar der eine 7 Tage (Serum I B), der andere 15 Tage (Serum II B) nach der letzten Injection. Die Ziege hatte bis zu dieser Zeit 11780 T.-E. und 6 abgetödtete Agarculturen erhalten.

Serum I B zeigte fast keine antitoxische Wirkung, aber es schützte gewissermaassen vor der Infection, indem die mit Serum präventiv geimpften und nachträglich inficirten Mäuse die Controlthiere um mehrere Tage (bis zu 6) überlebten:

Versuch vom 12. XII.

Maus	285	erhielt	0·1 Serum	+ 0·1	Toxin 22	. .	† 13. XII.
„	287	„	0·2 „	+ 0·1	„	. .	† 13. XII.
„	289	„	0·3 „	+ 0·1	„	. .	lebt.
„	291	„	0·5 „	+ 0·1	„	. .	† 13. XII.
„	293	Controlthier erhielt		0·1	„	. .	† 13. XII.



Versuch vom 12. XII.

Maus 278	0·1	Serum I B präventiv, 24 Stunden später je $^{5}/_{100000}$ Oese Pestcultur intraperitoneal	† 18. XII.	Infectionsbefund. Milztumor. Herzblut: Pestcultur.
„ 280	0·2		† 17. XII.	
„ 283	0·3		† 21. XII.	
„ 274	Controlthier $^{5}/_{100000}$ Oese Cultur . .		† 15. XII.	

Bei dem zweiten Serum (II B) war es umgekehrt: das Serum hatte eine ganz ausgesprochene antitoxische, aber fast gar keine immunisirende Wirkung. Mit 0·1 ccm Serum war ich im Stande, die Mäuse vor Intoxication mit der kleinsten tödtlichen Dosis Filtrats einer alten, bei Brüttemperatur gezüchteten Pestcultur zu schützen, während das Fünffache dieser Menge bei Infection den Tod kaum um 24 Stunden hinauszuschieben vermochte:

Versuch vom 20. XII.

Maus 305 . .	0·1 Serum + 0·1 Toxin 23 (Brüttemperatur)	leben.	
„ 306 . .	0·2 „ + 0·1 „		
„ 308 . .	0·5 „ + 0·1 „		
„ 303	0·1 „		† 22. XII.
„ 302	0·05 „		

Versuch vom 3. I.

Maus 337	Serum II B präventiv	am 4. I. je $^{5}/_{100000}$ Oese Po-Cultur . .	intraperit.	† 7. I.	Infectionsbefund.
„ 338		. .		† 7. I.	
„ 339		. .	subcutan	† 8. I.	
„ 340		. .		† 8. I.	
„ 349	Controlthiere	. .	intraperit.	† 6. I.	
„ 350		. .	subcutan	† 8. I.	

Gegen Filtrate von alten, bei Zimmertemperatur gezüchteten Pestculturen war dieses Serum unwirksam.

Versuch vom 24. XII.

Maus 328	0·2 Serum + 0·05 Toxin 19 (Zimmertemp.)	† 25. XII.
„ 329	0·3 „ + 0·05 „	lebt.
„ 330	0·6 „ + 0·1 „	† 25. XII.
„ 331	Controlthier 0·05 „	† 25. XII.

Das Pariser Serum, das ich zu prüfen die Gelegenheit hatte, schützte in Dosen von 0·5 ccm Mäuse ganz sicher vor 24 Stunden später erfolgter Infection mit 100facher, zur Infection noch ausreichender Dosis[1] virulenten Materiales; 0·2 ccm Pariser Serum genügten nicht, um Mäuse vor dem Tode zu retten, obwohl sich der Tod bis um 14 Tage verzögerte.

[1] Die einfache tödtliche Dosis betrug bei meiner Cultur nur $^{5}/_{10000000}$ Platinöse; ich hebe diesen Umstand deshalb hervor, da es der deutschen Pestcommission nicht gelungen ist, Mäuse mit Pariser Serum gegen Infection zu schützen.



Wenn ich aber das Pariser Serum mit dem Serum II B zu gleichen Theilen mischte und mit diesem Gemische Mäuse gegen Infection präventiv impfte, so genügten 0·2 ccm dieses Gemisches, welche Dosis 0·1 ccm Pariser Serum enthielt, um Mäuse vor dem Tode zu retten. Ein Gemisch von Pariser Serum mit normalem Ziegenserum im gleichen Verhältnisse erwies sich vollkommen unwirksam, indem selbst mit 0·5 ccm dieses Gemisches präventiv geimpfte Mäuse der Infection unterlagen.

Versuch vom 3. I.

Maus 341	Pariser Serum	0·2 ccm	am 4. I. mit $^5/_{100\,000}$, die Controlthiere mit $^5/_{10\,000\,000}$ Oese Po-Cultur inficirt	intraperitoneal	† 14. I.
„ 342		0·5 „			lebt.
„ 343		0·2 „		subcutan	† 18. I.
„ 344		0·5 „			lebt.
„ 345	Pariser Serum + Serum II B āā	0·2 „		intraperitoneal	„
„ 346		0·5 „			† 8. I.
„ 347		0·2 „		subcutan	lebt.
„ 348		0·5 „			„
„ 353	Controlthiere			intraperit.	† 6. I.
„ 354				subcutan	† 8. I.

Ich war sonach mit meinem Serum, welches schwach antitoxische und fast keine immunisirende Wirkung hatte, im Stande, den immunisirenden Wirkungswerth des Pariser Serums zu erhöhen. —

Zwei weitere Aderlässe bei derselben Ziege wurden wieder unmittelbar nach einander, und zwar 11 und 25 Tage nach der letzten Injection, gemacht. Die Ziege hatte bis dahin 17630 T.-E., 58 abgetödtete Agarculturen und ca. 100 ccm abgetödteter Bouilloncultur erhalten.

Das Serum, welches 11 Tage nach der letzten Injection gewonnen wurde, paralysirte in Dosen von 0·1 und 0·2 ccm die minimale tödtliche Dosis Toxins. Höhere Dosen Serums (0·5 ccm) hatten jedoch, wenn sie mit Toxin Mäusen einverleibt wurden, den Tod dieser Thiere zur Folge.

Diese toxische Nebenwirkung des Serums, welche Mäusen gegenüber bei Anwendung von grösseren Dosen so ausgeprägt war, kam bei Ratten, und zwar bei Injection von Serum und Toxin, gar nicht zum Vorschein; es genügte bei diesen Thieren 0·5 ccm Serum, um die minimale tödtliche Dosis Toxins unschädlich zu machen, doch auch das Zehnfache dieser Serummenge übte auf die Ratten keine krankmachende Wirkung aus.

Dagegen zeigte sich dieses Serum wenig wirksam bei inficirten Ratten, die, mit 1 bis 5 ccm Serum präventiv geimpft, die Controlthiere höchstens um 2 Tage überlebten. Nur eine Ratte, welche 11 Tage vor der Infection 5 ccm Serum und die einfache tödtliche Dosis Toxins erhielt, bildete eine Ausnahme. Dieses Thier blieb dauernd gesund, obwohl es das 10000 fache der zur Infection noch genügenden Culturmenge intraperitoneal erhalten hatte. (Siehe nachfolgendes Protokoll.)



Protokoll VI.

Antitoxische und immunisirende Wirkung des Serum III B.
(Aderlass 11 Tage nach der letzten Injection.)

6. III.	Maus 405		0·1	Serum III B präventiv. 24 Stunden später je 0·2 ccm Toxin 29	† 7. III
	„ 406		0·2		
	„ 407		0·5		
	„ 415	Control-thiere	0·1	Toxin 29	† 9. III
	„ 416		0·2		
11. III.	Ratte 12	0·5	Toxin 29 + 0·5	Serum III B	leben als am 22. III
	„ 13	0·5	+ 1·0		
	„ 14	0·5	+ 5·0		
9. III.	Ratte 4, „ II	Control-thiere	je 0·5 Toxin 29		† 11. III

Dieselben Ratten 11 Tage nach der Seruminjection inficirt:

22. III.	Ratte 12		$^5/_{10\,000}$	Oese Po-Cultur	† 26. III.	Milz klein, keine Bacillen sichtbar, Herzblut, Agarstrich, Pestcultur.
	„ 13		$^5/_{1000}$		† 27. III.	Milz klein, Herzblut, Agarstrich, steril.
	„ 14		$^5/_{100}$		blieb am Leben.	
	„ 20	Controlthiere	$^5/_{1\,000\,000}$		† 26. III.	Milztumor, Herzblut, Agarstrich, Pestcultur.
	„ 21		$^5/_{100\,000}$		† 27. III.	dito.

22. IV.	Ratte 28	1·0 Ser. III B präventiv	23. IV. je $^5/_{100\,000}$ Oese Po-Cultur	† 27. IV.	Infectionsbefund
	„ 29	5·0		† 29. IV.	
	„ 34	Controlthier		† 27. IV.	
7. V.	Ratte 37	5·0 Ser. III präv.	8. V. $^5/_{100\,000}$ Oese Po-Cult.	† 15. V.	Infectionsbefund.
	„ 38	Controlthiere	8. V. $^5/_{10\,000\,000}$	blieb am Leben.	
	„ 39		8. V. $^5/_{100\,000}$	† 13. V.	Infectionsbefund.

An Mäusen war die immunisirende Wirkung des Serum III B evidenter als an Ratten; 0·2 ccm Serum schützen Mäuse vor Infection. Aber selbst bei kleineren Dosen (0·1 ccm) war noch eine deutliche immunisirende Wirkung wahrzunehmen, indem sich der Tod der Serumthiere um 4 Tage verzögerte. Hingegen war fast gar kein Einfluss des Serums zu sehen, wenn man höhere Dosen (0·5 ccm) verimpfte: die geimpften Thiere unterlagen fast gleichzeitig mit den Zeugen der Infection. Ein Gemisch dieses Serums mit Pariser Serum aa part. aequ. verlieh schon in Dosen von 0·1 ccm den Mäusen einen sicheren Schutz. (Siehe Protokoll VII.)

Protokoll VII.

Präventive Wirkung des Serum III B sowie eines Gemisches dieses Serums mit Pariser Serum āā part. bei Mäusen.

6. III.	Maus 408	0·1	Serum III präventiv	24 St. später je $^5/_{100\,000}$ Oese Pestcultur	Exitus 15. III.	
	„ 409	0·2			blieb am Leben.	
	„ 410	0·5			Exitus 12. III. Inf.-Bef.	
	„ 411	0·1	Serum III + Pariser Serum āā		. . .	blieben am Leben.
	„ 412	0·2			. . .	
	„ 413	0·5			. . .	
	„ 417	Controlthiere	$^5/_{10\,000\,000}$	Oese Pestcultur	Ex. 12. III.	Infectionsbefund, Agarstrich von H.-B. Pestbacillen.
	„ 418		$^5/_{1\,000\,000}$			
	„ 419		$^5/_{100\,000}$		Ex. 11. III.	

Es kann kein Zweifel obwalten, dass die an und für sich zwar unbedeutende toxische Nebenwirkung des Serums den Organismus hinderte, die Antikörper des Serums auszunutzen.

Gänzlich frei von der toxischen Nebenwirkung war das Serum IV, welches 25 Tage nach der letzten Injection von derselben Ziege gewonnen wurde; 0·1 ccm dieses Serums paralysirte die minimale tödtliche Dosis Toxins, und es waren selbst grössere Mengen Serums (0·9 ccm) sowie Gemische mit normalem Ziegenserum für Mäuse vollkommen unschädlich (siehe Protokoll VIII). Hingegen zeigte dieses Serum bei Mäusen gegen die Infection fast keine immunisirende Wirkung, indem die mit Serum vorbehandelten Mäuse, gleichgültig ob sie mehr oder weniger Serum erhielten, die Controlthiere nur um 24 Stunden überlebten.

Ganz anders verhielten sich die Ratten. Bei diesen Thieren genügte schon 1 ccm Serum, um sie vor Infection zu schützen. Es ist offenbar bei Ratten die antitoxische Wirkung gleichzeitig eine antiinfectiöse, was bei Mäusen nur theilweise zutrifft. Bei Mäusen muss man ein stark antiinfectiöses Serum verwenden, um sie vor Infection zu schützen. Der antitoxischen Wirkung kommt zwar auch eine Rolle zu, aber sie ist viel untergeordneter als bei Ratten. (Siehe Protokoll VIII.)

Protokoll VIII.

Antitoxische und baktericide Wirkung des Serum IV B.
(Aderlass 25 Tage nach letzter Injection.)

21. III.	Maus 442	0·2 Tox. 29			Exitus 22. III.
	„ 443	0·2 „ + 0·2 Ser. IV.			
	„ 444	0·2 „ + 0·2 „ + 0·3 norm. Ziegenserum.			
	„ 449	0·2 „ + 0·5 „			
	„ 439	0·1	Serum IV präventiv. 24 St. nachher $^5/_{100\,000}$ Oese Pestcultur	. .	Exitus 26. III. Infectionsbefund.
	„ 440	0·2		. .	
	„ 441	0·5		. .	
	„ 450	Controlthiere	$^5/_{100\,000}$ Oese Pestcultur	Exitus 25. III.	Inf.-Bef.
	„ 451		$^5/_{1\,000\,000}$	„ 26. III.	

23. III.	Maus 457	0·3 Tox. 29	. . . .		Exitus 24. III.
	„ 458	0·3 „	+ 0·1 Ser. IV.		
	„ 459	0·3 „	+ 0·2 „		
	„ 460	0·3 „	+ 0·3 „	+ 0·4 norm. Ziegenserum.	
	„ 461	0·3 „	+ 0·7 „		
	„ 462	0·9 „	+ 0·9 „		
22. IV.	Ratte 30	1·0	Ser. IV B präventiv	24 St. nachher je $^5/_{1000}$ Oese Po-Cultur	leben.
	„ 31	5·0			
	Controlratte	. . . . .			† 27. IV. Inf.-Befund.

Es scheint, dass die toxische Nebenwirkung nur einem Serum anhaftet, welches vor Ablauf von 3 Wochen nach der letzten Toxininjection gewonnen wurde. Je früher nach der Reaction das Serum gewonnen wurde, desto giftiger wirkte es.

Hierfür bietet die Wirkung des Serums V ein Beispiel, welches gleich nach abgelaufener Reaction (3 Tage nach der letzten Injection) gewonnen wurde.

Dieses Serum wirkte so toxisch für Mäuse, dass sie schon nach Dosen von 0·1 ccm in 24 Stunden eingingen:

Versuch vom 19. IV.

Maus 494	0·1 ccm	. . . .	† 20. IV.
„ 495	0·2 „	. . . . . .	† 22. IV.
„ 496	0·3 „	. . . . . .	† 20. IV.
„ 497	0·5 „	. . . . . .	† 20. IV.
„ 498	1·0 „	. . . . . .	† 22. IV.

Bei Ratten war die Giftigkeit dieses Serums zwar weniger ausgeprägt, aber auch seine Schutzwirkung gegen Infection war gering.

Versuch vom 22. IV.

Ratte 32 erhielt 1 ccm Serum V	am 23. IV. alle drei	† 27. IV.
„ 33 „ 5 „ „	mit je $^5/_{100\,000}$ Oese	† 29. IV.
„ 34 Controlthier. . . .	Po-Cultur geimpft	† 27. IV.

Die Wirkung des Serums VI war, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht, ganz analog jener des Serums IV: eine ausgeprägte antitoxische Wirkung bei Mäusen und Ratten, antiinfectiöse Wirkung nur bei Ratten:

Versuch vom 13. V.

Maus 514		0·25 Toxin 36	+ 1·0 Serum VI . .	leben.
„ 515		0·5 „	+ 1·0 „ . .	
„ 513	Controlthiere	0·2 „	. . . .	† 14. V.
„ 512		0·1 „	. . . .	† 14. V.
„ 511		0·05 „	. . . .	lebt.



Versuch vom 20. V.

Maus	516	erhielt 0·1 ccm Serum VI präventiv	am 21. V. je $^5/_{100\,000}$ Oese Po-Cultur	† 25. V.	Infectionsbefund.
„	517	„ 0·2 „ Serum VI präventiv	„	† 25. V.	„
„	518	„ 0·5 „ Serum VI präventiv	„	† 25. V.	„
„	522	Controlthiere	„	† 23. V.	„
„	523	Controlthiere	„	† 23. V.	„

Versuch vom 27. V.

Ratte	38	. . 0·5 Ser. VI präv.	am 28. V. je $^5/_{100\,000}$ Oese Po-Cultur	† 2. VI.	Infectionsbefund.
„	39	. . 1·0 Ser. VI präv.	„	lebt.	
„	40	Controlthier . .	„	† 1. VI.	Infectionsbefund.

Aus den angeführten Versuchen möchte ich die combinirte Immunisirung mit Pestfiltraten und abgetödteten Agarculturen empfehlen und für die Gewinnung antitoxisch-antiinfectiösen Serums die Regel ableiten, dass der Aderlass nicht früher als 3 Wochen nach der letzten Toxininjection und nicht später als 2 Wochen nach der letzten Einverleibung von abgetödteten Culturen gemacht werden soll.

Die Wirkung der giftigen Filtrate scheint im Thierkörper eine protrahirte zu sein, das Blut bedarf zu seiner Entgiftung einer längeren Zeit, und erst dann wird das Maximum der Antitoxine im Serum erreicht. Hingegen geht die Bildung von Antikörpern viel rascher vor sich, sie scheinen aber rascher abzunehmen als die Antitoxine. —

Ich möchte nun die Wirkung des Pestserums besprechen, welches von den Pferden „Cato“ und „Cicero“ im August vorigen Jahres, also nach ca. 9monatlicher Behandlungsdauer, gewonnen wurde.

Der Aderlass wurde in beiden Fällen 7 Tage nach der letzten Injection gemacht.

Das Cato-Serum wirkte exquisit antitoxisch, indem 0·1 ccm noch die 3fache tödtliche Dosis Toxins bei Mäusen sicher paralysirte. Toxische Wirkung für Mäuse haftete diesem Serum nicht an, trotzdem dasselbe 7 Tage nach der letzten Injection gewonnen wurde:

Versuch vom 13. IX.

Maus	608	erhielt 0·1 ccm Serum	+ 0·3 ccm Toxin	leben.
„	609	„ 0·1 „ „	+ 0·4 „ „	leben.
„	610	„ 0·1 „ „	+ 0·5 „ „	leben.
„	611	„ 0·1 „ „	+ 0·6 „ „	leben.
„	612	„ 0·1 „ „	+ 0·7 „ „	† 14. IX.
„	613	„ 0·1 „ „	+ 0·8 „ „	krank, hat sich erholt.
„	614	Controlthier erhielt	0·2 „ „	† 14. IX.

Die antitoxische Wirkung bezog sich jedoch vorzugsweise auf das Mäusegift und nur sehr wenig auf das hitzebeständige Toxin. Dies trat besonders deutlich bei Ratten zu Tage, bei welchen, wie schon erwähnt,

sowohl das Mäusegift als das hitzebeständige Gift ziemlich gleichmässig wirken, nur dass das erstere acut, binnen wenigen Stunden, das letztere mehr protrahirt, binnen 8 bis 20 Tagen, zum Tode führt.

Wenn man Ratten eine binnen 24 Stunden tödtende Dosis Pestfiltrat mit Serumzusatz injicirte, unterlagen die Thiere der acuten Vergiftung nicht — das Serum paralysirte das Mäusegift. — Sie gingen jedoch in 8 bis 20 Tagen fast gleichzeitig mit jenen Ratten ein, welchen man gleiche Dosen eines erhitzten Pestfiltrates injicirte, wo das Mäusegift zerstört worden war. Das Serum paralysirte nicht das hitzebeständige Gift.

Versuch vom 19. XI.

Ratte 114	0·5 ccm	Toxin	† nach	1 Tage
„ 115	1·0 „		† „	1 „
„ 116	0.5 „	erhitztes Toxin	† „	19 Tagen
„ 117	1·0 „		† „	15 „
„ 118	1·0 „	Toxin + 0.5 Ser. Cato	† „	18 „
„ 119	1·0 „	erhitztes Toxin + 0·5 Ser.	† „	19 „

Versuch vom 7. I.

Ratte 124	0·5 ccm	Toxin Nr. 58	† nach	1 Tage
„ 127	0·5 „	Toxin 58 erhitzt	† „	8 Tagen
„ 128	1.0 „		† „	8 „
„ 133	0·5 „	Toxin + 0·1 Ser.	† „	8 „
„ 134	0·5 „	erhitztes Toxin + 0·1 Ser.	† „	8 „

Nicht so schön trat diese Serumwirkung bei Meerschweinchen hervor, welche mehr für das hitzebeständige als für das Mäusegift empfänglich sind. Aber auch hier konnte man beobachten, dass Serumthiere jene mit Toxin allein injicirten um wenige Tage überlebten, ohne dass es jedoch möglich war, den Tod selbst durch hohe Serumdosen hintanzuhalten.

Versuch vom 9. I.

Meerschweinchen 30	7 ccm	Toxin	† nach	5 Tagen
„ 32	7 „	Toxin + 2 ccm Serum	† „	8 „
„ 33	7 „	erhitztes Toxin	† „	7 „
„ 35	7 „	„ „ + 2 ccm Ser.	† „	8 „

Gegen durch Hitze abgetödtete Agarculturen, in welcher das Mäusegift nicht enthalten war (Mäuse vertrugen grosse Mengen intraperitoneal ohne jeden Schaden), die jedoch für Ratten und Meerschweinchen giftig waren, wirkte das antitoxische Serum vom Pferde Cato sehr wenig.

Versuch vom 3. II.

Ratte 168	1 ccm	Agarculturaufschwemmung (1 Literflasche Agar auf 30 ccm Kochsalzlösung)	† 4. II.
„ 170	1 „	Aufschwemmung + 5 ccm Serum	† 8. II.
Meerschweinchen 37	1 ccm	Aufschwemmung	† nach 4 Tagen
„ 38	1 „	Aufschwemmung + 5 ccm Ser.	† nach 6 Tagen



Das eben geschilderte Verhalten des antitoxischen Serums vom Pferde Cato erweckte den Anschein, dass man gegen das in den Pestfiltraten enthaltene hitzebeständige Gift, welches mit dem in den Bakterienleibern enthaltenen ebenfalls hitzebeständigen Gifte identisch sein dürfte, nur in beschränktem Maasse Pferde immunisiren kann.

Allerdings war noch die Möglichkeit vorhanden, dass das Serum viel rascher als das hitzebeständige Gift aus dem Körper ausgeschieden wird, so dass zu der Zeit, wenn dieses Gift den Organismus angreift, die Antitoxinwirkung bereits vorüber ist.

Ich war bemüht, in dieser Hinsicht eine Aufklärung zu gewinnen, indem ich Ratten Pestfiltrate mit kleinem Serumzusatz injicirte und nach einigen Tagen die Seruminjection wiederholte; thatsächlich ist es mir gelungen, durch diese Behandlung Ratten am Leben zu erhalten. Viceversa blieb jedoch auch diese Procedur resultatlos, wenn ich sie mit erhitzten Filtraten wiederholte.

Versuch vom 3. III.

Ratte	180	0·5 Toxin + 0·3 Serum	† 9. III.
„	181	0·5 Toxin + 0·1 „	lebt
		am 6. III. 0·1 „	
		am 13. III. 0·1 „	
„	182	0·5 erhitztes Toxin + 0.3 Serum	† 8. III.
„	183	0·5 erhitztes Toxin + 0·1 Serum	† 8. III.
		am 6. III 0·1 Serum.	

Ich muss daher die Entscheidung der Frage, ob man im Stande ist, auch gegen das hitzebeständige Pestgift ein wirksames Serum zu gewinnen, einem späteren Zeitpunkte vorbehalten, bis mir durch Behandlung mit eingedickten Toxinen gelungen ist, ein wirksameres Serum darzustellen.

Um über das Verhältniss des Mäusegiftes zu dem hitzebeständigen Gifte in den Pestfiltraten einen Aufschluss zu gewinnen, versuchte ich, ob das hitzebeständige Gift das Antitoxin des Serums bindet.

Es hat sich gezeigt, dass dies nicht der Fall ist, oder wenigstens, dass die Bindung eine labile sein muss und bei Gegenwart von Toxin vielleicht in Folge einer grösseren Verwandtschaft des Antitoxins zu Mäusegift als zu dem hitzebeständigen Toxin wieder aufgelöst wird.

Ich habe verschiedene Mengen des erhitzten Toxins mit je 0·1 ccm Serum versetzt und 2 Stunden bei Bruttemperatur stehen gelassen. Dann wurden diese Gemische mit einer constanten Menge Toxins, welche ein Multiplum der Dosis letal. minima darstellte, aber durch die angewendete Serummenge noch sicher paralysirt werden konnte, gemischt und Mäusen intraperitoneal injicirt.

Das Ergebniss dieses Versuches war, dass die so behandelten Mäuse am Leben blieben.



Versuch vom 2. III.

Maus	727	0·05	Toxin 70	lebt
„	729	0·1	Toxin 70	† 3. III.
„	730	0·2	Toxin 70	† 3. III.
„	733	0·1	Ser. + 0·3 Toxin 70	leben noch 14 Tage.
„	734	0·1	„ + 0·4 „	leben noch 14 Tage.
„	735	0·1	„ + 0·5 „	leben noch 14 Tage.
„	736	0·1	„ + 0·6 „	† 10. III.
„	737	0·1	„ + 0·7 „	lebt
„	738	0·1	„ + 0·8 „	† 10. III.
„	739	0·1	„ + 0·9 „	† 3. III.
„	743	(0·1	„ + 0·3 erhitztes Toxin) + 0·3 Toxin	leben nach 14 Tagen
„	744	(0·1	„ + 0·5 „ „) + 0·3 „	leben nach 14 Tagen
„	745	(0·1	„ + 0·7 „ „) + 0·3 „	leben nach 14 Tagen
„	746	(0·1	„ + 0·9 „ „) + 0·3 „	leben nach 14 Tagen
„	747	(0·1	„ + 1·1 „ „) + 0·3 „	leben nach 14 Tagen
„	748	(0·1	„ + 1·3 „ „) + 0·3 „	leben nach 14 Tagen
„	749	(0·1	„ + 1·5 „ „) + 0·3 „	leben nach 14 Tagen

Eine jede Beziehung zwischen dem Antitoxin und dem hitzebeständigen Gifte möchte ich jedoch aus diesem Versuche doch nicht ableiten, zumal es, wie schon erwähnt wurde, doch möglich ist, durch Behandlung der Thiere mit erhitzten Filtraten ein das Mäusegift paralysirendes Serum zu gewinnen.

Allerdings scheint die Immunität der Thiere gegen das Mäusegift bei Behandlung mit erhitzten Filtraten viel langsamer vor sich zu gehen als bei Behandlung mit nicht erhitztem Toxin. So kommt z. B. bei Mäusen schon durch einmalige Einspritzung der subminimalen Dosis Toxin in 9 Tagen eine Grundimmunität zu Stande, indem so behandelte Thiere nach dieser Zeit die einfache tödtliche Dosis Toxins vertragen.

Bei Anwendung von erhitzten Filtraten in derselben Dosirung kommt jedoch keine Grundimmunität zu Stande; man muss fünffach so hohe Dosen anwenden, um eine solche zu erzielen.

Versuch vom 29. VIII.

Maus	559	0·1	Erhitztes Toxin	Am 10. IX. je 0·2 ccm nicht erhitztes Toxin	† 11. IX.
„	560	0·2	Erhitztes Toxin	Am 10. IX. je 0·2 ccm nicht erhitztes Toxin	† 11. IX.
„	561	0·5	Erhitztes Toxin	Am 10. IX. je 0·2 ccm nicht erhitztes Toxin	† 11. IX.
„	562	1·0	Erhitztes Toxin	Am 10. IX. je 0·2 ccm nicht erhitztes Toxin	lebt.
„	575		Controlthiere am 10. X. geimpft	0·1 Toxin	lebt.
„	576		Controlthiere am 10. X. geimpft	0·2 „	† 11. IX.

Ausser der antitoxischen hatte das Cato-Serum auch eine antiinfectiöse Wirkung; allerdings war es, selbst in grossen Dosen angewendet, nicht im Stande, den Tod der inficirten Thiere zu verhindern.



Am 4. IX. erhielten:

Ratte 60	. . . . .	1·0 ccm	Cato-Serum
„ 61	. . . . . .	3·0 „	
„ 62	. . . . . .	5·0 „	

48 Stunden später wurden alle 3 mit einer Controlratte (63) mit $^5/_{100000}$ Oese Pestcultur intraperitoneal inficirt.

Die Controlratte starb am 9. IX., die Ratte 60 am 10. IX., die 2 übrigen am 11. IX. an Pest.

Es überlebten daher die präventiv geimpften Thiere das Controlthier um 24 bis 48 Stunden.

Deutlicher trat die präventive Wirkung des Cato-Serums zu Tage, wenn man noch mit geringeren Mengen inficirte:

Am 11. IX. erhielten 3 Ratten (64 bis 66) 1, bezw. 3 und 5 ccm Serum und am 12. IX. wurden sie mit Controlratte 73 mit $^5/_{1000000}$ Oese Pestcultur inficirt. Das Controlthier starb am 17. IX., die übrigen am 18., 21 und 28. IX. an Pest. Das Serum verzögerte daher den Tod bis um 11 Tage.

Das Cicero-Serum hatte ebenso wie das Pariser Serum keine antitoxische Wirkung.

Versuch vom 12. X.

Maus 657	0·2 Toxin 49	+ 0·2 Cicero-Serum		† 13. X.
„ 658	0·2 „	+ 0·5 „		
„ 670	0.2 „			

Versuch vom 15. XII.

Maus 295	0·1 Pariser Serum	+ 0·1	Toxin 23	† 17. XII.
„ 296	0·2 „ „	+ 0·1	„	
„ 297	0·3 „ „	+ 0·1	„	
„ 298	0·4 „ „	+ 0·1	„	
„ 299	0·5 „ „	+ 0·1	„	
„ 300		0.1	„	
	(5 Mon. alte Cultur, Brüttemperatur)			

Versuch vom 22. XII.

Maus 323	0·1 Pariser Serum	+ 0·1	Toxin 19	† 23. XII.
„ 324	0.2 „ „	+ 0·1	„	
„ 325	0·3 „ „	+ 0·1	„	
„ 327	0·5 „ „	+ 0·1	„	
„ 318		0·05	„	
	(5 Mon. alte Cultur, Zimmertemperatur)			

Gegen die Infection hatte jedoch das Cicero-Serum eine ganz ausgeprägte präventive Wirkung.

Es genügte 1 ccm dieses Serums, um Ratten, die 24 Stunden später eine 1000 fache tödtliche Dosis Cultur intraperitoneal erhielten, vor dem Infectionstode zu schützen. Allerdings gingen die präventiv geimpften Thiere doch ein, aber nach mehr als einem Monate nach der Infection und es ist weder mikroskopisch noch culturell gelungen, bei ihnen Pestbacillen nachzuweisen.



Mischte man das Cicero-Serum mit dem Cato-Serum zu gleichen Theilen, so genügte 1 ccm dieser Mischung, um Ratten vor Infection zu schützen und die inficirten Thiere dauernd am Leben zu erhalten. Der günstige Einfluss des Cato-Serums äusserte sich schon in den ersten Tagen nach der Infection darin, dass die Infection nicht die geringsten Krankheitserscheinungen bei den Versuchsthieren hervorrief, was bei den mit dem Serum vom Pferde Cicero allein immunisirten Ratten nicht der Fall war. Diese sassen gewöhnlich mehrere Tage mit gesträubtem Haar in ihrem Käfig und zeigten eine erhöhte Secretion der Conjunctiven. Die mit dem Serumgemenge immunisirten Thiere blieben dagegen nach der Infection ebenso munter wie vorher.

Für die Wirkung des antiinfectiösen und des antiinfectiös-antitoxischen Serums seien folgende Beispiele angeführt:

Am 11. IX. erhielten 4 Ratten Serum präventiv, und 24 Stunden später wurden sie mit einer Controlratte mit $^{5}/_{100\,000}$ Oese Pg-Cultur intraperitoneal inficirt:

Ratte	68	3 ccm	Serum Cicero	† 13. X.	Negativer Sectionsbefund. Herzblut Agarstrich steril.
„	69	5 „	Serum Cicero	† 17. X.	angefressen.
„	71	3 „	Serum Cicero-Cato	† 21. X.	angefressen.
„	72	5 „	Serum Cicero-Cato		lebt.
„	74		Controlthier.	† 17. IX.	Pestinfection.

Am 20. IX. erhielten 4 Ratten Serum präventiv, 24 Stunden nachher wurden sie intraperitoneal inficirt:

Ratte	75	1·0 ccm	Serum Cicero, $^{5}/_{10\,000}$ Oese Pg-Cultur	† 30. X.	Negativer Sectionsbefund, Herzblut steril.
„	76	1·0 „	Serum Cicero, $^{5}/_{1000}$ Oese Pg-Cultur	† 31. X.	Negativer Sectionsbefund, Herzblut steril.
„	78	1·0 „	Serum Cicero-Cato, $^{5}/_{10\,000}$ Oese Pg-Cultur		leben.
„	79	1·0 „	Serum Cicero-Cato, $^{5}/_{1000}$ Oese Pg-Cultur		leben.
„	81		Controlthier $^{5}/_{10\,000\,000}$ Oese Pg-Cult.	† 24. IX.	Pestinfection

Eine der präventiven ganz analoge Wirkung hatten das Cato- und Cicero-Serum, sowie ein Gemisch von beiden bei den Heilversuchen. Das Cato-Serum war nicht im Stande, die pestkranken Ratten zu heilen; das Cicero-Serum übte zwar auf den Krankheitsprocess eine unverkennbare heilsame Wirkung aus, aber die behandelten Thiere gingen zumeist doch, allerdings im späteren Verlaufe und dann ohne Infectionsbefund, zu Grunde.

Am 27. IX. wurden 5 Ratten, Nr. 84 bis 89, mit je $^{5}/_{100\,000}$ Oese Pg-Pestcultur intraperitoneal inficirt.

15 Stunden nach der Infection erhielten:

Ratte 84	5 ccm Serum Cicero	. . . . .	† 4. XI. Herzblut steril.
„ 85	5 „ „ Cicero-Cato āā	. . .	lebt.

24 Stunden nach der Infection erhielten:

Ratte 86	5 ccm Serum Cicero	. . . . .	} leben.
„ 87	5 „ „ Cicero-Cato	. . .	
„ 89	blieb als Controlthier	. . . .	† 30. IX. Pestinfection.

Am 25. X. wurden 4 Ratten, Nr. 110 bis 113 mit je $^5/_{1000}$ Pg-Cultur intraperitoneal inficirt; 24 Stunden später erhielten:

Ratte 110	. . . . .	5 ccm Serum Cato
„ 111	. . . . .	5 „ Serum Cicero
„ 112	. . . . .	5 „ Serum Cato-Cicero
„ 113	blieb als Controlthier.	

Das Controlthier starb am 28. X. und Ratte 110 am 30. X. an Pest.

Das Cicero-Serumthier ging am 2. XI. ein. Bei der Section zeigte sich ein kleiner Milztumor, das Herzblut war steril.

Das Cato-Cicero-Thier überlebte.

Wenn man nun die Versuche noch einmal überblickt, so kann man die Resultate derselben in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Der Pestbacillus bildet aus dem Thierkörper frisch isolirt und bei Luftzutritt in Bouillon gezüchtet immer lösliche Gifte. Die Wirksamkeit derselben ist je nach der Art und dem Alter der Cultur sowie der Wahl der Versuchsthiere verschieden.

Nach lange Zeit fortgesetzter Züchtung verliert der Pestbacillus allmählich die Fähigkeit, für Mäuse giftige Stoffe zu bilden. Die Toxinproduction kehrt aber wieder zurück, wenn die Cultur passirt wird.

2. Durch vorsichtige Einverleibung steigender Mengen von Pesttoxinen ist man im Stande, die Giftfestigkeit der behandelten Thiere herbeizuführen; das Blutserum solcher giftfester Thiere wirkt zur richtigen Zeit entnommen antitoxisch gegen Pestgifte und lässt selbst eine immunisirende Wirkung bei der Infection erkennen. Insbesondere ist man im Stande, ein antiinfectiöses Serum durch Zusatz von antitoxischem Serum zu verbessern. Diese Verbesserung bezieht sich sowohl auf den präventiven, als auf den Heilwerth des Serums.

Als richtiger Zeitpunkt für die Entnahme des Blutes zur Gewinnung eines antitoxischen Serums ist bei Ziegen die 3. bis 4. Woche nach der letzten Toxineinspritzung anzusehen. Dem vor der 3. Woche gewonnenen Serum haftet eine toxische Substanz an, welche die antitoxische Wirkung dieses Serums, falls es in grösseren Mengen angewendet wird, ganz verdecken kann.



3. Durch combinirte Immunisirung mit Toxinen und abgetödteten Bacillenleibern erreicht man sowohl gegen Gifte als gegen die Infection Immunität. Das Blutserum verbindet dann die antitoxische Wirkung mit der antiinfectiösen und ist daher einem nur antiinfectiösen Serum vorzuziehen.

Die günstigste Zeit zum Aderlasse bei combinirt immunisirten Ziegen ist die dritte bis vierte Woche nach der letzten Toxininjection und die erste und zweite Woche nach der letzen Cultureinspritzung, da die immunisirende Kraft des Serums ziemlich rasch nach der Injection abnimmt.

4. Durch die Erhitzung der Pestfiltrate auf 70° C. geht ihre Giftigkeit für Mäuse verloren, während sie für Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen beibehalten bleibt.

Dieser Umstand spricht dafür, dass die Pestfiltrate ein Gemenge von zwei verschiedenen, aber doch verwandten Pestgiften darstellen.

Die Verwandschaften der beiden geht am besten daraus hervor, dass man auch durch Behandlung von Thieren mit erhitzten Filtraten im Stande ist, ein antitoxisches Serum zu gewinnen (auch für Mäuse gegenüber giftigen Filtraten wirksam).

Dem so gewonnenen Serum haftet keine toxische Nebenwirkung an, gleichgültig ob es früher oder später nach der letzten Injection gewonnen wurde.

Es ist daher diese Methode der Gewinnung von antitoxischem Serum der oben angeführten vorzuziehen.



Litteratur-Verzeichniss.

1. Abel, Zur Kenntniss des Pestbacillus. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1897. Nr. 13/14.

2. Albrecht und Ghon, Ueber die Beulenpest in Bombay im Jahre 1897. *Denkschrift der mathemat.-naturw. Classe der Kais. Akademie der Wissenschaften.*

3. Aufzeichnungen über die am 19. und 20. October 1899 im Kais. Gesundheitsamte abgehaltenen wissenschaftlichen Besprechungen über die Pestfrage. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVI. Nr. 22/23.

4. *Bericht der internationalen Pestcommission in Oporto.*

5. Bitter, Ueber Haffkine'sche Serumimpfungen gegen Pest. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXX.

6. Bourges, *La peste.* Paris 1899.

7. Calmette-Salimbeni, La peste bubonique. Étude de l'épidemie d'Oporto an 1899: Sérotherapie. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899. XII.

8. Clemow, The Serum treatment of plague. *The Lancet.* 1899. Nr. 3949. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVI. Nr. 11/12.

9. Denys-Tatakowsky, Procédé d'inoculation augmentant l'action du sérum antipesteux dans une proportion considérable. *Bulletin de l'académie royale de méd. Belgique.* Bd. XIV. Nr. 16.

10. Gaffky, Pfeiffer, Sticker, Dieudonné, Bericht über Thätigkeit der zur Erforschung der Pest i. J. 1897 nach Indien entsandten Commission. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. XVI.

11. Hesse, Ueber Gasaufnahme und Abgabe von Culturen des Pestbacillus. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV.

12. Kitasato, *Bericht über die Pestepidemie in Kobe u. Osaka von November 1899 bis Januar 1900.* Tokio 1900. Ministerium des Innern.

13. Kossel-Frosch, Ueber die Pest in Oporto. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Bd. XVII.

14. Lustig, *Sieroterapia e Vaccinazioni prevent. controla peste bubon.* Torino 1899.

15. Markl, Beitrag zur Kenntniss der Pesttoxine. *Centralblatt für Bakteriologie.* — Ueber die Pesttoxine und die Gewinnung des antitoxischen Pestserums. *X. Congrès intern. d'hygiène et de démographie.* Paris 1900.

16. Matignon, La peste bubonique en Mongalie. *Annales d'hygièn.* 1898. S. 227.

17. Mayr, Ueber die bisherige Anwendung des Prof. Lustig'schen Pestserums in Bombay. *Wiener med. Blätter.* 1899. Nr. 48.



18. La peste a Smyrne en 1900. *Bericht des Dr. Louffi Bey und Dr. Mizzi an den obersten Sanitätsrath in Konstantinopel.* Konstantinopel 1900.

19. Rumpel-Reiche, Hamburger Pestcommission in Oporto. Vortrag: *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 47.

20. Symmers, Report on preparation of plague serum. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV.

21. Toptschieff, Beitrag zum Einfluss der Temperatur auf die Mikroben der Beulenpest. *Ebenda.* Bd. XXIII.

22. Uschinski, Aetiologie und Serotherapie der Pest. Ref. *Ebenda.* Bd. XXIII.

23. Vagedes, Ueber die Pest in Oporto. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Bd. XVII.

24. Wassermann, Experimentelle Untersuchungen über einige theoretische Punkte der Immunitatslehre. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXII.

25. Weichselbaum, Albrecht, Ghon, Ueber Pest. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 50.

26. Wernicke, Ueber Immunisirungsversuche bei der Bubonenpest. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIV.

27. Wladimiroff, Kritischer Ueberblick über die specif. Mittel, die für die Bekämpfung der Bubonenpest in Vorschlag gebracht worden sind. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIV.

28. Wladimiroff u. Kresling, Zur Frage der Nährmedien für den Bacillus der Bubonenpest und sein Verhalten zu niederen Temperaturen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897.

29. Yersin, Rapport sur la peste bub. de Nhatrang (Annam). *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899. Nr. 3.

30. Zabolotny, La peste en Mongolie. *Ebenda.* T. XIII. Nr. 11.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Die Infectiosität der Milch tuberculöser Kühe, die Sicherstellung der bakteriologischen Diagnose, sowie die praktische Bedeutung des Tuberculins für die Ausrottung der Rindertuberculose.

Von

Dr. **Lydia Rabinowitsch.**

Bei der grossen Verbreitung und stetig wachsenden Zunahme der Tuberculose unter den Rindern ist der Frage, ob durch die Milch tuberculöser Kühe die Krankheit auf andere Thiere übertragen werden kann, von jeher die ernsteste Aufmerksamkeit geschenkt worden. Nachdem experimentell festgestellt worden war, dass in der That die Tuberculose durch Verfütterung und Genuss inficirter Milch auf Kälber und Schweine übertragen werden kann, war wohl die Möglichkeit, aber immer noch nicht die Häufigkeit dieses Infectionsmodus unter natürlichen Verhältnissen erwiesen. Den besten Maassstab jedoch für die Grösse dieser Gefahr, welche der Genuss der Milch tuberculöser Kühe für die Ausbreitung der Perlsucht unter den Viehbeständen bedeutet, bildet die Häufigkeit der Kälbertuberculose sowie die erschreckende Zunahme der Schweinetuberculose in den letzten Jahren. Die Schweinetuberculose ist in circa 90 Procent der Fälle auf Fütterung mit inficirter Milch zurückzuführen.

Die Häufigkeit der intestinalen Infection darf bei der enormen Verbreitung der Tuberculose unter den Milchkühen nicht Wunder nehmen, da fast alle neugeborenen Kälber lange Zeit hindurch mit der Milch der



Mutterthiere ernährt werden. Die Zunahme der Schweinetuberculose findet ferner ihre Erklärung dadurch, dass das Jungvieh ebenfalls mit Kuhmilch aufgezogen wird, während im Uebrigen die Hauptfütterung der Schweine bei der jetzigen Vermehrung der Sammelmolkereien in den rohen Molkereirückständen, besonders dem Centrifugenschlamm und der Centrifugenmilch besteht.

Nachdem die Uebertragbarkeit der Perlsucht unter den Viehbeständen durch die Milch als erwiesene Thatsache betrachtet werden musste, blieb ferner die Frage offen, ob die Milch sämmtlicher tuberculöser Kühe Tuberkelbacillen enthält oder nur bei bestimmten Formen der Tuberculose als infectiös anzusehen ist.

Durch Untersuchungen von Bollinger, Bang und einer grösseren Anzahl von Autoren ist bereits vor langen Jahren festgestellt worden, dass in der Milch von Kühen, die mit Eutertuberculose oder allgemeiner Tuberculose behaftet sind, Tuberkelbacillen vorkommen. Eine kleine Zahl von Untersuchern, wie Hirschberger u. A., hat auch die Infectiosität der Milch bei beginnender Tuberculose ohne Betheiligung des Euters experimentell bewiesen.

Nach der epochemachenden Entdeckung des Tuberculins war aber bisher nie die Frage aufgeworfen worden, ob auch die Milch solcher Kühe Tuberkelbacillen enthält, die noch keine klinischen Erscheinungen der Tuberculose zeigen, deren Erkrankung aber durch die positive Tuberculinreaction sichergestellt ist. Diese Frage habe ich im Jahre 1899 auf Grund gemeinschaftlicher Untersuchungen mit Kempner[1] in dem Sinne beantwortet, dass bei latenter nur durch die Tuberculinreaction angezeigter Tuberculose Tuberkelbacillen durch die Milch ausgeschieden werden können. Sind also in der Milch solcher Kühe Tuberkelbacillen enthalten, so ist dieselbe als infectiös zu betrachten und ihr Genuss für das Jungvieh nicht minder gefährlich, als die Milch hochgradig erkrankter oder mit Eutertuberculose behafteter Kühe. Bei diesen und meinen späteren Versuchen hielt ich es nicht nur für vollkommen ausreichend, sondern auch für den einzig sicheren Weg, durch intraperitoneale Verimpfung der Milch an Meerschweinchen festzustellen, ob in derselben Tuberkelbacillen enthalten sind oder nicht. Die Infectiosität der Milch durch Fütterungsversuche beweisen zu wollen, ist unstatthaft, da ja bei ein- oder mehrmaliger Verfütterung die Milch viel grössere Mengen von Tuberkelbacillen beherbergen muss, um bei den Versuchsthieren eine Infection zu erzielen, als bei lange Zeit fortgesetzter Fütterung, wie es doch der Wirklichkeit entspricht. Eine mit

[1] *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXXI. S. 137.



Tuberkelbacillen inficirte Milch wird sich demnach bei wiederholter Verfütterung in um so grösserer Verdünnung als infectiös erweisen.

Die Thatsache des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Milch lediglich auf Tuberculin reagirender Kühe, ohne klinische Zeichen tuberculöser Erkrankung ist in demselben Jahre von Adami und Martin[1] an der Hand eingehender Untersuchungen bestätigt worden. Eine weitere Stütze wurde durch meine vorjährigen Untersuchungen der Berliner Kindermilch erbracht, indem nur die Milch derjenigen Kuhbestände frei war von Tuberkelbacillen, welche einer fortlaufenden Tuberculinprobe unterstellt waren, während Bestände, die klinisch keine Tuberculose zeigten, aber nicht auf Tuberculin geprüft wurden, eine inficirte Milch lieferten.

Meine früheren sowie die seither fortgesetzten bakteriologischen Untersuchungen der Milch von hauptsächlich der Eutertuberculose verdächtigen Kühen haben folgendes Ergebniss gehabt.

Was den mikroskopischen Nachweis von Tuberkelbacillen in der Milch durch Ausstrichpräparate des Rahm-Bodensatzgemenges der centrifugirten Milch betrifft, so ist derselbe mit Sicherheit nicht zu erheben. Einerseits ist der negative mikroskopische Befund von säurefesten Bacillen nicht beweisend, da dieselben in so geringer Anzahl in der verdächtigen Milch vorhanden sein können, dass sie in ein oder mehreren mikroskopischen Präparaten vermisst werden, während selbst eine verschwindend kleine Zahl von Tuberkelbacillen noch durch den Thierversuch festzustellen ist. Andererseits finden sich in den Ausstrichpräparaten sehr häufig säurefeste tuberkelbacillenähnliche Bakterien, die mit den von Koch in der Butter entdeckten tuberkelbacillenähnlichen Stäbchen culturell sowie im Thierversuch identisch und im mikroskopischen Bild schwer oder überhaupt nicht von echten Tuberkelbacillen zu unterscheiden sind. Diese Stäbchen wurden nicht nur in der Marktmilch von Petri, mir, Beck[2], Santori[3] und anderen gefunden, sondern liessen sich auch aus den steril entnommenen Milchproben einzelner Kühe mit Hülfe des Thierexperimentes isoliren. Dieser von uns schon in den Vorjahren erhobene Befund[4] von tuberkelbacillenähnlichen Stäbchen in der steril aufgefangenen Milch tuberculoseverdächtiger Kühe ist nunmehr auch von Kühnau[5] bestätigt worden.

[1] *Report on observations made upon the cattle at the experimental station at Outremont, P. Q.-Recognized to be tuberculous by the Tuberculin test.* Ottawa 1899. p. 1—32.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1890. Bd. XXVIII. S. 452.

[3] *Annali d'igiene sperim.* 1900. Vol. X.

[4] A. a. O.

[5] *Berliner thierärztliche Wochenschrift.* 1900. Nr. 30. S. 349.



Kühnau konnte sowohl in der Mischmilch sowie in den steril aufgefangenen Einzelproben in ca. 20 bis 25 Procent der Fälle die Stäbchen durch den Thierversuch nachweisen. Ob die genannten Bakterien durch die Milchdrüse ausgeschieden werden oder ob sie von aussen in die Strichcanäle des häufig entzündeten Euters hineingelangen, mag dahingestellt bleiben und ist für die differentialdiagnostische Bedeutung dieser Bakterien belanglos. Der häufige Befund der tuberkelbacillenähnlichen Bakterien in der Milch darf nach den neueren Untersuchungen nicht Wunder nehmen. Bereits vor Jahren hatten Severin[1] im Kuhmist und Olt[2] im Darminhalt tuberculöser sowie gesunder Rinder säurefeste Bacillen gesehen, deren Reincultivirung nunmehr Moëller[3] sowohl aus Kuhmist als auch von dem vielfach als Futter benutzten Thimotheusgras gelungen ist. Dieselben oder ähnliche säurefeste Bakterien fand neuerdings Cowie[4] auf dem Euter selbst und Ludwig Neufeld[5] im Mammapfropf einer Kuh.

Abgesehen von diesen säurefesten Stäbchen ist die Anwesenheit anderer saprophytischer wie auch pathogener Bakterien im Euter, namentlich von Streptokokken bei Mastitis, schon früher von Nocard und Mollereau, Bang u. A. sowie erst im letzten Jahre wiederum durch Untersuchungen von Ward[6] sowie von Reed und Ward[7] experimentell festgestellt worden. Letztere Autoren haben sogar zum Theil bei anscheinend gesunden Kühen, die klinisch keine Zeichen einer Mastitis darboten, aus den steril entnommenen Milchproben neben harmlosen Bakterien lange Zeit hindurch Streptokokken isolirt, die sie nach der Schlachtung dieser Kühe in sämmtlichen Euterpartieen wiederfanden. Auch die neben den Streptokokken aus der Vormilch isolirten Bakterienarten stimmten mit den nach der Section aus dem Euter gezüchteten überein. Dass Streptokokken nach abgelaufener Mastitis noch einige Zeit lang in der steril aufgefangenen Milch nachzuweisen sind, ist neuerdings ferner durch Lameris und van Harrevelt[8] angegeben worden.

Nach alledem ist auch der relativ nicht seltene Befund tuberkelbacillenähnlicher Bakterien in der Milch nicht befremdlich und wohl so aufzufassen, dass dieselben ebenso wie die Streptokokken entweder durch die Zitzenöffnung von aussen in das Euter hineingelangen oder mit der Nahrung

---

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1895. Abth. II. S. 98.
[2] *Deutsche thierärztliche Wochenschrift.* 1897. Nr. 52.
[3] *Berliner thierärztliche Wochenschrift.* 1898. S. 100.
[4] *Journal of experimental medicine.* 1900. Vol. V. p. 205.
[5] *Archiv für Hygiene.* 1900. Bd. XXXIX.
[6] *Journal of the Boston soc. of med. scienc.* 1900. Vol. IV. Nr. 7. p. 176.
[7] *Ebenda.* 1901. Vol. V. Nr. 7. p. 387.
[8] *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene.* 1901. Bd. XI. S. 114.

aufgenommen vom Darm aus auf dem Blut- oder Lymphwege die Milchdrüse inficiren. Ob dieselben selbständig entzündliche Processe im Euter hervorrufen können, oder in Folge einer schon vorhandenen Mastitis einen ihnen zusagenden Nährboden finden, bleibt vorläufig noch unentschieden. Da diese säurefesten Stäbchen zuweilen haufenweise im Ausstrichpräparat der centrifugirten Milch sichtbar sind, so ist eine mikroskopische Differenzirung von echten Tuberkelbacillen äusserst erschwert oder gänzlich unmöglich, zumal wenn beide Bakterienarten, wie wir experimentell beweisen konnten, neben einander in der Milch vorkommen.

Der einzige und sicherste Weg des Nachweises von Tuberkelbacillen in der Milch bleibt demnach der Thierversuch, und zwar die intraperitoneale Verimpfung des Rahm-Bodensatzgemenges der gut ausgeschleuderten Milch an Meerschweinchen. Wie empfänglich diese Thiere für den Tuberkelbacillus bei dieser Art der Infection sind, beweist folgender interessante Versuch Ostertag's: Die Milch einer eutertuberculösen Kuh, welche nach einmaliger Verfütterung von 20 ccm beim Meerschweinchen Fütterungstuberculose hervorrief, war noch in einer Verdünnung von 100 000 im Stande, Meerschweinchen nach Einspritzung in die Bauchhöhle tuberculös zu machen. Neben dem Centrifugiren habe ich auch dem Umstande stets grosses Gewicht beigemessen, dass ich den letzten Rest der gut ausgemolkenen Milch zur Untersuchung verwandte. Durch vergleichende Untersuchungen konnte ich in der That feststellen, dass das Ausmelken verdächtiger Kühe hinsichtlich des Bacillenbefundes positive Resultate ergab, während die mit den ersten Strichen geimpften Versuchsthiere nicht tuberculös wurden. Die Milch tuberculoseverdächtiger Kühe muss ferner wiederholentlich zu verschiedenen Zeiten untersucht werden, da ein einmaliges negatives Resultat nicht beweisend ist. So sicher auch eine kleine Anzahl von Tuberkelbacillen in der Milch durch den Impfversuch nachzuweisen ist, so kann andererseits das Experiment in hohem Grade beeinträchtigt werden, falls bei den Versuchsthieren tuberculoseverdächtige Veränderungen auftreten, die durch die oben besprochenen tuberkelbacillenähnlichen Bakterien bedingt sind. Die zuweilen makroskopisch die echte Tuberculose vortäuschenden Organveränderungen lassen sich im histologischen Bilde leicht als Pseudotuberkel erkennen. Da aber die Tuberkelbacillen, wie bereits gesagt, mit den anderen säurefesten Bakterien vergesellschaftet sein können, so empfiehlt sich neben einer eventuellen histologischen Untersuchung die Weiterverimpfung der verdächtigen Organe zur sicheren Diagnosestellung. Auf diese Weise kann sich der wiederholte Thierversuch ziemlich langwierig gestalten, und die sichere Entscheidung, ob in der Milch einer tuberculoseverdächtigen Kuh wirklich echte Tuberkelbacillen vorhanden sind, 2 bis 3 Monate lang hinausgezogen werden.



Der Befund von Tuberkelbacillen in der Milch geht nicht, wie wir bereits kennen gelernt haben, mit der Ausbreitung der Tuberculose im Thierkörper parallel, wenn auch zugegeben werden kann, dass bei hochgradiger allgemeiner Tuberculose, sowie bei Eutertuberculose der Nachweis der Tuberkelbacillen in der Milch am ehesten zu erwarten ist. Auf welche Schwierigkeiten jedoch die klinische Erkennung der Eutertuberculose stösst, auch wenn die Untersuchung von competentester Seite vorgenommen wird, davon habe ich mich an der Hand meines letztjährigen Untersuchungsmateriales zur Genüge überzeugen können. Die Milch der betreffenden Kühe, sowie die Ergebnisse der klinischen Untersuchung wurden mir in liebenswürdigster Weise von Hrn. Geheimrath **Schütz** und Hrn. Thierarzt Dr. **Schröder** übermittelt.

Ich habe mir diesmal die Aufgabe gestellt, die Milch solcher Kühe auf Tuberkelbacillen zu untersuchen, bei denen die wiederholte klinische Diagnose den Verdacht oder das Vorhandensein einer Eutertuberculose ausgesprochen hatte. Die betreffenden 10 Kühe, deren Milch zum Theil zu wiederholten Malen mikroskopisch, sowie durch den Thierversuch geprüft wurde, waren der Tuberculinprobe nicht unterworfen worden. Es kam uns diesmal eben darauf an, festzustellen, ob die klinische Untersuchung einer Kuh, speciell des Euters, einen Rückschluss auf die Infectiosität der Milch zulässt.

Ohne auf die Einzelheiten unserer Versuche eingehen zu wollen, möchten wir doch das Untersuchungsresultat der Kühe besprechen, welches die von uns gestellte Frage am besten beleuchtet.

In der Milch einer klinisch mit Eutertuberculose behafteten Kuh liessen sich **nur** durch den Thierversuch, nicht mikroskopisch Tuberkelbacillen nachweisen. Bei einer zweiten Kuh mit derselben Diagnose fanden sich mikroskopisch wiederholt zahlreiche säurefeste Bakterien in der Milch, während der Thierversuch negativ ausfiel. Die Section dieser Kuh konnte weder makroskopisch noch mikroskopisch die klinische Diagnose der Eutertuberculose bestätigen, sondern ergab nur eine chronische interstitielle Mastitis. Auch die Verimpfung einzelner verdächtiger Euterpartieen fiel negativ aus.

Bei zwei weiteren Kühen, von denen die eine mit Sicherheit als eutertuberculös, die andere als der Eutertuberculose stark verdächtig erklärt wurde, fanden sich zu wiederholten Malen mikroskopisch zahlreiche säurefeste Bakterien, die bald für Tuberkelbacillen, bald für tuberkelbacillenähnliche Stäbchen angesprochen wurden. Die Milch dieser beiden Kühe erzeugte bei den Versuchsthieren in Lungen und Bauchorganen tuberculoseverdächtige Veränderungen, welche durch die tuberkelbacillenähnlichen Bakterien her-



vorgerufen waren; dieselben konnten in Reincultur gezüchtet werden. Die Weiterverimpfung der verdächtigen Organe ergab ein negatives Resultat.

Den interessantesten Befund erhielten wir bei der Untersuchung einer Kuh, bei welcher die klinische Diagnose der Eutertuberculose durch die Section bestätigt wurde. Weder mikroskopisch, noch durch den Thierversuch konnten in der Milch Tuberkelbacillen aufgefunden werden. Die histologische Untersuchung ergab zahlreiche Bacillenhaufen in den tuberculösen Euterpartieen, allerdings nur in dem tuberculösen Zwischengewebe, während in den Milchcanälen Tuberkelbacillen nicht gesehen wurden.

In der Milch der übrigen 5 Kühe, die der Eutertuberculose dringend verdächtig erklärt wurden, konnten Tuberkelbacillen nicht nachgewiesen werden.

Aus dieser kurzen Zusammenstellung ergiebt sich unzweideutig, dass die klinische Untersuchung der Kühe, speciell auf Eutertuberculose, durchaus keinen Anhalt dafür giebt, ob durch die Milch der betreffenden Kuh Tuberkelbacillen ausgeschieden werden. Denn einerseits haben bereits unsere früheren Untersuchungen, wie aus den Protokollen der Arbeit hervorgeht, gezeigt, dass eine Erkrankung des Euters durch die klinische Untersuchung überhaupt nicht wahrgenommen oder nur eine Entzündung desselben diagnosticirt wurde, während die spätere histologische Untersuchung, sowie der Ausfall des Thierexperimentes mit der injicirten Milch und den verimpften Euterpartieen den Beweis lieferte, dass es sich in der That um Eutertuberculose handelte. Zu demselben Resultate gelangte auch Delépine[1] bei der Untersuchung einer Kuh, deren Euter erst bei der histologischen Untersuchung für tuberculös erkannt wurde. Die Milch dieser Kuh enthielt Tuberkelbacillen, obwohl die wiederholte klinische Untersuchung, wie auch die makroskopische Besichtigung des Euters nach der Section keine Anhaltspunkte für Tuberculose ergab. Es kann auch nicht Wunder nehmen, dass eine beginnende oder noch nicht weit vorgeschrittene Tuberculose des Euters sich der Erkennung durch die Palpation entzieht. Nach Fiorentini ist übrigens die hauptsächlichste, zur Beobachtung gelangende Form der Eutertuberculose die miliare, welche nach Ansicht dieses Autors fast nur durch die Tuberculinreaction zu diagnosticiren ist.

Andererseits wird nicht selten eine tuberculöse Erkrankung des Euters diagnosticirt, während die Section und die histologische Untersuchung nur eine interstitielle Mastitis oder Cystenbildungen im Euter ergeben. Diese Thatsache ist nicht nur durch unsere eigenen Untersuchungen, wie aus der obigen Zusammenstellung hervorgeht, festgestellt, sondern auch von Adami

[1] *The Journal of comparative pathology.* 1899. p. 344.



und **Martin**[1], sowie von **Delépine**[2] an interessanten Beispielen erläutert worden.

Dass auch Streptokokken-Invasionen, die, wie wir früher gesehen haben, sehr häufig das Euter befallen, mitunter Erscheinungen hervorrufen, welche dem Bilde der Eutertuberculose täuschend gleichen, hebt **Kühnau**[3] in seinem letzten Artikel über die Tilgung der Rindertuberculose ausdrücklich hervor.

Auch für die dritte Möglichkeit habe ich nunmehr durch meine diesjährigen Versuche den experimentellen Beweis erbracht, dass nämlich Tuberkelbacillen in der Milch trotz wiederholter Verimpfung mitunter nicht nachweisbar sein können, auch wenn die klinische Diagnose der Eutertuberculose durch die Obduction bestätigt wird, und obwohl Tuberkelbacillen in grossen Schaaren in den tuberculösen Euterpartieen, allerdings nur im tuberculösen Zwischengewebe, nicht in den Milchcapillaren selbst aufgefunden werden. Bei der Eutertuberculose handelt es sich bezüglich der Ausscheidung der Tuberkelbacillen durch die Milch unseres Erachtens hauptsächlich darum, wie weit die Tuberculose des Organs vorgeschritten ist. Es ist ferner leicht verständlich, dass bei einer circumscripten Tuberculose des Euters mit abgekapselten Herden die Tuberkelbacillen viel schwerer in das Lumen der Milchgänge hineingelangen können, als bei einer diffusen tuberculösen Entzündung. An der Hand der makroskopischen und mikroskopisch-histologischen Untersuchung verschiedener tuberculöser Euter, die mir der Director der Fleischbeschau am Berliner Centralviehhofe, Hr. Dr. **Reissmann**, in freundlicher Weise übermittelte, konnte ich mich überzeugen, wie sehr der Tuberkelbacillenbefund in dem Milchsecret von der Ausbreitung und dem Sitze der tuberculösen Veränderungen im Eutergewebe abhängig ist. Trotz vorgeschrittenen Processes war es mir sogar manchmal erst nach einer Anzahl von Ausstrichpräparaten des aus den Milchgängen ausgepressten Secretes möglich, Tuberkelbacillen aufzufinden. So habe ich ferner einige Male auch bei ausgebreiteter Tuberculose des Euters im histologischen Bilde die Bacillen in den Milchcapillaren vermisst, während in anderen Fällen wiederum die Capillaren mit Bacillen vollgepfropft waren.

Bei der Verschiedenartigkeit des Bacillenbefundes im tuberculösen Euter, die meine diesbezüglichen Untersuchungen ergaben, möchte ich der Vermuthung Raum geben, dass auch die von **Nocard** zuerst empfohlene Harpunirung wohl nicht immer ein sicheres Urteil abgeben dürfte, ob es sich bei einer verdächtigen Kuh um Eutertuberculose handelt oder nicht. Ab-

[1] A. a. O.
[2] A. a. O.
[3] *Berliner thierärztliche Wochenschrift.* 1901. S. 119.



gesehen davon wird die Harpunirung von verschiedenen Autoren, neuerdings auch von Kühnau[1], als nicht ganz ungefährlich hingestellt.

Hat sich somit die klinische Untersuchung der Milchkühe bezüglich der Frage des Tuberkelbacillenbefundes in der Milch ohne Zuhülfenahme der anderen Untersuchungsmethoden als unzuverlässig und unzulänglich erwiesen, und haben wir den bakteriologischen Nachweis der Bacillen an der Hand des Thierversuches als ziemlich langwierig kennen gelernt, so erübrigt nur noch die Tuberculinprobe als schnellstes und sicherstes Erkennungsmittel. Das Tuberculin wird von der grössten Anzahl ausländischer Autoren neben der klinischen Untersuchung als bestes Mittel zur Erkennung der Tuberculose und somit zur Ausrottung der Rindertuberculose empfohlen. Es ist andererseits erklärlich, dass man von landwirthschaftlicher Seite aus der ungeheueren Ausdehnung der Rindertuberculose wegen das Tuberculin in Misscredit zu bringen bestrebt ist. Die geringen Fehldiagnosen, nach Schütz 2·9 Procent, sind wahrscheinlich nicht dazu angethan, den eminenten Werth der diagnostischen Tuberculinimpfung herabzusetzen.

Wenn durch die klinische Untersuchung bereits mit Sicherheit Tuberculose festgestellt ist, dann ist natürlich die Tuberculinprobe überflüssig; somit ist auch der Einwand hinfällig, dass ungefähr 10 Procent der Rinder, welche nicht reagiren, trotzdem tuberculös sind. Dies sind eben, wie bekannt, aber trotzdem immer von Neuem gegen die Tuberculinprobe in's Feld geführt wird, hochgradig tuberculöse Rinder, die bereits so viel eigenes Tuberculin producirt und in ihrem Organismus aufgespeichert haben, dass sie auf das injicirte Tuberculin nicht mehr reagiren können. Die Tuberculinprobe soll nur bei tuberculoseverdächtigen Thieren vorgenommen werden. In diesem Sinne angewandt, sind aus den soeben angegebenen Gründen Fehldiagnosen überhaupt nicht vorhanden, wie mir Nocard auf Grund seiner reichen Erfahrungen in Frankreich mitgetheilt hat. Auch Bang[2] tritt in seiner letzten vorjährigen Schrift über die Bekämpfung der Tuberculose noch mit demselben Eifer wie bisher für das Tuberculin ein, welches er trotz gegentheiliger Einwände für das feinste und sicherste diagnostische Mittel zur Erkennung der Tuberculose hält.

Nach dem jetzigen wissenschaftlichen Stande der Frage betreffs Ausrottung der Rindertuberculose können wir in der That behaupten, dass die Tilgung der Tuberculose ohne Zuhülfenahme des Tuberculins eine Unmöglichkeit darstellt. Natürlich wird in erster Linie die Ausmerzung der eutertuberculösen und der mit allgemeiner Tuberculose behafteten Kühe anzustreben sein, deren Milch am ehesten als infectiös anzusehen ist. In zweiter

[1] A. a. O. 1901. S. 119.

[2] *Hospitalstidende.* Kopenhagen 1900.



Hinsicht kämen sodann die Thiere, bei welchen die klinische Diagnose nur mit Hülfe des Tuberculins gesichert werden kann. Diese Kühe sind vorallererst von den gesunden abzusondern, ihre Tilgung jedoch muss von dem rascheren oder langsameren Fortschreiten der tuberculösen Erkrankung abhängig gemacht werden. Hiermit ist gesagt, dass natürlich nicht gleich sämmtliche auf Tuberculin reagirenden Thiere geopfert werden sollen. Im Vereine mit der klinischen Untersuchung und der bakteriologischen Controle der Milchkühe ist daher die Tuberculinprobe der sicherste Weg zur Gewinnung einer tuberkelbacillenfreien Milch und einer tuberculosefreien Aufzucht des Nachwuchses.



[Aus dem hygien. Institut der königl. thierärztl. Hochschule zu Berlin.]
(Prof. Dr. Ostertag.)

Corynethrix pseudotuberculosis murium, ein neuer pathogener Bacillus für Mäuse.

Beitrag zur Pseudotuberculose der Nagethiere.

Von

Rossarzt **Bongert,**
z. Z. Repetitor am gen. Institut.

(Hierzu Taf. V u. VI.)

In der Seuchenforschung kann man die bemerkenswerthe Thatsache constatiren, dass zuerst der Erreger einer bestimmten Krankheit entdeckt und der pathologisch-anatomische Charakter der letzteren festgelegt wird. Im Verlauf der nachfolgenden biologischen Untersuchungen werden alsdann eine Reihe von Bakterien ermittelt und Krankheitsprocesse entdeckt, welche mit dem eigentlichen Krankheitserreger bezw. mit den specifischen Veränderungen der betreffenden Seuche die grösste Uebereinstimmung zeigen. Auf diese Weise hat man fast für jede wichtige Infectionskrankheit neben dem specifischen Erreger verschiedene „Pseudoerreger" oder „Pseudokrankheitsprocesse" der betreffenden Art kennen gelernt.

Von allen diesen Krankheitsprocessen hat man von Anfang an der sogenannten Pseudotuberculose das grösste Interesse entgegengebracht und zwar vielleicht aus dem Grunde, weil, nach den bisherigen Untersuchungen zu schliessen, diese Krankheitsprocesse hauptsächlich unseren Laboratoriumsthieren, den Nagern, eigenthümlich sind und speciell bei diagnostischen Impfungen mit tuberculoseverdächtigem Material für echte Tuberculose gehalten werden und zu grossen Irrthümern führen können.

Die bis jetzt vorliegenden Mittheilungen über Funde von bacillärer Pseudotuberculose sind sehr zahlreich. In der Mehrzahl der Fälle handelte es sich um seuchenartig oder spontan aufgetretene pseudotuberculöse Krankheitsprocesse bacillärer Natur bei Kaninchen und Meerschweinchen. Derartige Krankheitsprocesse sind beobachtet und beschrieben worden von Malassez und Vignal (1), Eberth (2), Charrin und Roger (3), Dor (4), Nocard (5), Pfeiffer (6), Parietti (13), Zagari (9), Delbanco (20) u. A. Alle diese Forscher haben mehr oder minder verschiedene Bakterien als Erreger der Pseudotuberculose der Nagethiere beschrieben. Durch die eingehenden vergleichenden Untersuchungen von Nocard (5 b), namentlich aber durch die von Preisz (18) ist mit Sicherheit dargethan, dass die bacilläre Pseudotuberculose der Nagethiere mit der Tuberculose zoogléique der französischen Autoren identisch ist, und dass der von Pfeiffer genauer beschriebene Bacillus die ätiologische Einheit für alle diese tuberculoseähnlichen, übertragbaren Krankheitsprocesse der Nagethiere darstellt. Preisz hat 4 Pseudotuberculosefälle, die von verschiedenen Forschern ganz unabhängig von einander gefunden wurden, einem bakteriologischen und anatomischen Vergleich unterzogen und in exacter Weise bewiesen, dass 1. die Pseudotuberculose, welche Nocard (5 a) nach der Verimpfung von Nasenschleim einer Kuh bei Meerschweinchen beobachtete; 2. die von A. Pfeiffer (6) durch Verimpfung von rotzverdächtigem Material eines Pferdes erzeugte; 3. die von Zagari (9) seuchenhaft bei Meerschweinchen beobachtete, und 4. jene von Parietti (13) bei einem Kaninchen festgestellte Pseudotuberculose vollkommen identisch sind. Pfeiffer charakterisirt den Erreger der Pseudotuberculose der Nagethiere als ein ziemlich plumpes, unbewegliches Stäbchen von wechselnder Grösse, das einmal die ausgesprochene Neigung besitzt, unter bestimmten Wachsthumsbedingungen Kettenverbände zu bilden, zum anderen in Formen auftritt, welche von Kokken schwer zu unterscheiden sind. Diese Inconstanz der Form erklärt schon zur Genüge die verschiedenen Angaben der eben genannten Autoren bezüglich des morphologischen und biologischen Verhaltens des Erregers.

Aus den Untersuchungen von Pfeiffer (6), Nocard (5 b), Mazza und Mensi (16), Woroneff und Sineff (21), Galli-Valerio (22) geht aber ausserdem hervor, dass der Bac. pseudotuberculosis rodentium nicht nur als echter Parasit und Erreger seuchenartiger Erkrankungen auftritt, sondern auch gelegentlich als Saprophyt oder accidenteller Mikroorganismus in eitrigen, nekrotischen, namentlich aber in tuberculösen Herden vorkommen kann und bei Verimpfung dieses Materials an Meerschweinchen und Kaninchen jene tuberculoseähnlichen Processe hervorruft, welche wegen ihrer Entstehungsgeschichte besonders geeignet sind, bei oberfläch-



licher Untersuchung für echte Tuberculose gehalten zu werden. In gleicher Weise ist ein Irrthum möglich, wenn Versuchsthiere, die an Pseudotuberculose erkrankt sind, für gesund gehalten und mit tuberculoseverdächtigem Material geimpft werden.

Ausser dem Pseudotuberculosebacillus können aber noch andere accidentelle Bakterien in tuberculösen Herden vorkommen, die ebenfalls infectiöse, speciell Pseudotuberculose hervorrufende Eigenschaften für Kaninchen und Meerschweinchen besitzen. Derartige Beobachtungen sind veröffentlicht worden von Courmont (8), Hayem (27), Leroy (28).

Nicht identisch mit der Pseudotuberculose der Nagethiere ist die zuerst von Preisz und Guinard (14) beschriebene, später von Kitt (36), Ostertag (35), Turski (29) u. A. beobachtete Pseudotuberculose der Schafe, welche oft seuchenartig auftritt. Das die Pseudotuberculose der Schafe bedingende feine, rothlaufartige, nach Gram färbbare Stäbchen scheint mit dem von Kitt (12) als Erreger der käsigen, nicht tuberculösen, bacillären Pneumonie des Rindes beschriebenen Bacillus identisch zu sein. Hierhin wäre auch die von Nocard (7) studirte tuberculose- oder rotzähnliche Erkrankung des Rindes „le farcin du bœuf“ zu rechnen, welchem ein feines, langes nach Gram färbbares Stäbchen zu Grunde liegt, das scheinbar Verzweigungen und Fortsätze in den tuberkelähnlichen Knoten der erkrankten Gewebe bildet.

Die specifischen Erreger dieser drei zu unterscheidenden Hauptformen von seuchenartig auftretender Pseudotuberculose (Pseudotuberculose der Nagethiere, der Schafe und der Farcin du bœuf) sind virulent für Kaninchen, Meerschweinchen, Hausmäuse. Im Band XVIII dieser Zeitschrift aus dem Jahre 1894 beschreibt Kutscher (19) eine Pseudotuberculose der Mäuse, deren Erreger von den bisher beschriebenen Pseudotuberculosebacillen verschieden ist und sich nur virulent für Mäuse zeigte. Eine ähnliche Seuche beobachtete ich im Sommer 1900, welche endemisch unter den im hygienischen Institut der Berliner Thierärztlichen Hochschule gehaltenen Mäusen auftrat. Die Untersuchung dieser Mäuseseuche ergab in mancher Hinsicht eine nahe Verwandtschaft mit der von Kutscher beobachteten Mäusekrankheit, jedoch auch verschiedene durchgreifende Unterschiede, so dass ein genaueres Studium dieser sehr interessanten und noch nicht beschriebenen Seuche gerechtfertigt erschien.

Im Verlaufe von Untersuchungen über die Brustseuche der Pferde wurde bei verschiedenen Mäusen, welche 3 bis 5 Tage nach der Impfung mit Material von brustseuchekranken Pferden starben, eine multiple, nekrotisirende, käsige Pneumonie festgestellt. Man hätte versucht sein können, die Lungenentzündung der Impfmäuse als specifische Reaction der Impfung, als ein Analogon der Brustseuche der Pferde, anzusehen,



wenn nicht auch unter den Vorrathsmäusen alsbald Todesfälle eingetreten wären, welche denselben Befund darboten, wie die mit dem Materiale brustseuchekranker Pferde geimpften Versuchsthiere. In der Folge starb eine grössere Anzahl der Vorrathsmäuse an dieser Seuche. Nur ein geringer Theil derselben konnte durch Vertheilung der scheinbar gesunden Thiere in kleinere Behälter und Tödtung der kranken gerettet werden. Nach Verlauf von etwa 14 Tagen war die Seuche getilgt bezw. die der Ansteckung verdächtigen Mäuse zu anderen Zwecken aufgebraucht worden.

Bei den gestorbenen Mäusen wurde folgender Befund aufgenommen.

Pathologisch-anatomischer Befund.

Die Leber ist geschwollen, blutreich, vielfach von trüber Beschaffenheit, mit zerstreut liegenden käsigen Knötchen von Hirsekorn- bis Erbsengrösse durchsetzt. Die Knötchen schimmern als gelbweisse, unregelmässig begrenzte Herde durch die braune Lebersubstanz hindurch. Sie haben meist in der Peripherie ihre Lage, und zwar oft in der Nähe der Ränder. In einigen Fällen zeigte sich die Leber gleichmässig mit vielen Knötchen verschiedener Grösse durchsetzt.

Die Knötchen haben eine bröckelige, trocken-käsige Beschaffenheit.

Die Milz zeigt sich in der Regel geschwollen, dunkelroth. In derselben befinden sich wenige isolirte grössere Knötchen. In den Fällen, in denen kein Milztumor besteht, treten die Knötchen als buckelige Auftreibungen über die Oberfläche der Milz hervor.

Die Nieren sind trübe, geschwollen und vergrössert und regelmässig nur mit einem oder zwei grösseren käsigen Herden durchsetzt, wenn eine Metastasenbildung in ihnen zur Ausbildung gekommen ist. In mehreren Fällen hatte eine Niere den doppelten Umfang wie die andere und zeigte eine gleichmässige, schwarzrothe Farbe und eine morsche, brüchige Consistenz. Bei mehr chronischem Verlauf befand sich in der Rindenschicht der trüben, geschwollenen Nieren oft nur ein einzelner Käseherd bis zu Erbsengrösse, so dass der grösste Theil der Niere eine weisse, bröckelige, käsige Masse darstellte.

Die Lenden- und Gekrösdrüsen sind sehr oft geschwollen und in centraler Verkäsung begriffen.

Bei hochgradiger Erkrankung sind fast immer die Lungen erkrankt. Dieselben sind mit vielen kleinen oder vereinzelten, grossen, käsigen Knötchen durchsetzt. Die frisch entstandenen miliaren Knötchen sind glasig, durchscheinend, graublau und mit einer dunkelrothen, entzündlichen Zone umgeben. Sie zeigen also makroskopisch eine auffallende Aehnlichkeit mit echten Tuberkeln, wie man sie bei tuberculösen Meerschweinchen in der



Lunge zu sehen gewöhnt ist. Die etwas älteren Knötchen lassen einen centralen, trüben, gelblichweissen Punkt erkennen. Die grösseren Knötchen von Sagokorn- bis Erbsengrösse sind gelbweiss, trübe, auf dem Durchschnitt trocken und stellen eine gleichmässige käsige, bröckelige Masse dar. Die Structur des Lungengewebes lässt sich in den Knötchen nicht mehr erkennen. Die Knötchen grenzen sich ziemlich scharf von dem umgebenden Lungengewebe ab. In mehreren Fällen, in denen sich ein ganzer Lungenlappen erkrankt zeigte und die Pleura pulmonalis von dem käsigen Process ergriffen war, war die Lunge mit der Rippenwand durch ein käsig-eitriges Exsudat verklebt, welches sich auch in mässiger Menge in dem freien Brustraum vorfand. Die Bronchialdrüsen sind bei Erkrankung der Lungen geschwollen, mitunter im Centrum verkäst. Der Herzbeutel ist sehr oft in den käsigen Process hineingezogen. In diesem Falle ist das Herz von einer mehr oder weniger dicken käsigen Masse bedeckt und durch dieselbe mit den Lungen innig verklebt.

Die Kehlgangslymphdrüsen sind der Regel nach stark geschwollen und verkäst. Verschiedentlich zeigten sie sich um das 10fache vergrössert und in einen erbsengrossen, käsigen Herd umgewandelt. Von den Lymphdrüsen war in solchen Fällen nur noch die stark verdickte Adventitia vorhanden, so dass man von einem käsigen Abscess sprechen konnte. Seltener fand sich eine Schwellung und Verkäsung der oberen Halslymphdrüsen.

Eine eigentliche Kapselbildung wurde in keinem Falle, auch bei den grössten Knötchen nicht, beobachtet. Stets waren ein oder mehrere Organe von dem knötchenbildenden Process ergriffen. In verschiedenen Fällen bestand nur die Erkrankung eines Organs, so namentlich der Leber oder der Lungen, in anderen wurde einzig und allein eine starke Vergrösserung und vollständige Verkäsung der Kehlgangslymphdrüsen constatirt. Oder es waren die Lungen vollkommen gesund, während sich die Bauchorgane, Leber, Milz und Nieren erkrankt zeigten. Bei hochgradiger Erkrankung waren stets Leber, Milz, Lunge und auch die Nieren Sitz von käsigen Knötchen verschiedener Grösse, welche alle Stadien des käsigen Zerfalles zeigten. Es besteht somit eine gewisse Variabilität in der Erkrankung der einzelnen Organe, welche in ihrer Gestaltung, ähnlich wie bei der Tuberculose, von dem Sitz der Primärerkrankung abhängig zu sein scheint.

Bakteriologischer Befund.

In den Ausstrichpräparaten der käsigen Knötchen aus den verschiedenen Organen fanden sich in grosser Zahl äusserst kleine, kurze Stäbchen mit abgerundeten Enden. Dieselben haben ungefähr die Dicke



von Rothlaufstäbchen, sind aber nur etwa halb so lang wie die letzteren und vielfach leicht gebogen. Meist liegen die feinen Stäbchen zu zweien, mitunter auch zu dreien hinter einander oder hängen unter einem stumpfen Winkel zusammen. Die Stäbchen liegen vielfach nesterweise in dichten Haufen zusammen und sind in Zellen eingeschlossen. Der ganze Zellleib ist alsdann mit Stäbchen angefüllt; der meist noch gut gefärbte Zellkern erscheint bei Seite gedrängt. In den Gewebsausstrichen färben sich die Stäbchen leicht und gleichmässig mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen, dagegen tritt bei Anwendung der Gram'schen Methode Entfärbung ein. (Auf diesen Punkt komme ich noch einmal zurück.) Die Stäbchen erwiesen sich als nicht säurefest.

In der Peripherie sowohl wie im Centrum der käsigen Knötchen fanden sich die Stäbchen in gleichmässiger Vertheilung und Färbbarkeit vor. In alten käsigen Knötchen konnte vereinzeltes Auftreten von kolbig verdickten Stäbchen festgestellt werden (vgl. Taf. V, Fig. 1).

In Schnitten von Knötchen liessen sich die Stäbchen färberisch sehr schwer darstellen. Dasselbe Verhalten ist bekanntlich auch bei der sogenannten Pseudotuberculose der Nagethiere von den verschiedenen Autoren constatirt worden. Man muss annehmen, dass die Stäbchen durch die Präparation des Fixirens, Härtens, Einbettens u. s. w. das Vermögen, den aufgenommenen Farbstoff in gleicher Weise, wie die Zellkerne, zurückzuhalten, eingebüsst haben. Denn selbst bei langer Einwirkung intensiv färbender Farbstoffe (Carbolfuchsin, Löffler's Blau, Thionin) geben die Stäbchen bei der nachfolgenden Differenzirung selbst bei schonender Entfärbung den Farbstoff wieder ab, fast in derselben Weise, wie das Protoplasma der Zellen. Nur in ganz dünnen, $1^1/_2$ bis 2 μ starken Schnitten, welche zur Differenzirung nur eine ganz kurze Entfärbung in stark verdünntem Alkohol erforderten, behielten die Stäbchen etwas besser die Farbe zurück, so dass sie sich von der ebenfalls noch gefärbten Grundsubstanz einigermaassen abhoben.

Eine gute Uebersicht über den histologischen Aufbau der Knötchen und die Vertheilung der Stäbchen innerhalb der Gewebe konnte ich auch durch Deckglastrockenpräparate gewinnen, welche ich in der Weise herstellte, dass ich auf das über der Flamme mässig erhitzte Deckglas die Schnittfläche eines mit einer Pincette gehaltenen käsigen Knötchens aufdrückte. Hierdurch wird eine genügend dünne, zusammenhängende Gewebsschicht des Knötchens auf dem Deckglas fixirt, welche wie jeder andere Deckglasausstrich gefärbt werden kann.

In den gefärbten Schnittpräparaten heben sich bei schwacher Vergrösserung die käsigen Knötchen als lebhaft tingirte, rundliche Herde mit ziemlich scharfer Begrenzung ab. Die stärkere Färbung in den Knötchen



ist bedingt durch eine kleinzellige Infiltration, wodurch die Gewebsstructur verwischt bezw. zu Grunde gegangen ist. Es ist kein wesentlicher Unterschied zu constatiren, ob man ein Knötchen aus der Lunge oder der Niere untersucht. Jedes Mal ergiebt sich derselbe Befund: Eine starke Anhäufung von einkernigen auch mehrkernigen Zellen, dazwischen nesterweise und in breiten Zügen angeordnet ein Gewirr von kleinen Stäbchen, welche schwach gefärbt sind und den Zwischenräumen zwischen den lebhaft gefärbten Zellkernen ein schraffirtes Aussehen verleihen.

Die Stäbchen liegen, wie erwähnt, intracellulär, und die meist noch gut gefärbten Zellkerne haben in der Peripherie der Zelle ihre Lage. Im Centrum der Knötchen ist die Zahl der gut gefärbten Kerne eine geringere, die Zellgrenzen sind nicht mehr deutlich erkennbar, die Mehrzahl der Kerne ist zu Grunde gegangen. Man sieht meist nur Kerntrümmer und mit Stäbchen gefüllte Zellen, in welchen die Kerne in eine schwach gefärbte, granulirte Masse zerfallen sind, dazwischen auch Zellen, in welchen keine Spur von einem Kern mehr zu erkennen, wo an Stelle des Zellinhaltes ein compacter Bakterienhaufen getreten ist. In Folge des zelligen Zerfalles erscheint die Mitte der Knötchen wegen der geringeren Zahl der gefärbten Elemente gegenüber der Peripherie schwächer gefärbt. Doch tritt dieser Unterschied nur bei grösseren und somit älteren Knötchen deutlich hervor. Riesenzellen sind in den käsigen Knötchen nicht vorhanden.

In der Peripherie der Knötchen sieht man die Bacillen in dem interstitiellen Bindegewebe sich weiter ausbreiten. Doch ist diese Ausbreitung in schmalen Zügen in das noch nicht erkrankte Gewebe eine sehr beschränkte, so dass die Abgrenzung des Knötchens eine ziemlich scharfe bleibt. Die Ansiedelung der zahlreichen Bacillen ist somit innerhalb der durch dieselben bedingten Knötchen eine rein locale, die gesunden Abschnitte der einzelnen Organe sind frei von Bacillen. In Folge dessen sieht man auch in der Nachbarschaft der Knötchen keine secundären Knötchen entstehen (per continuitatem), wie bei der echten Tuberculose. Ein Einbruch der Stäbchen in die Blutbahn von den Primärherden aus findet statt, wie aus dem Auftreten von metastatischen Herden in der Milz und in den Nieren hervorgeht. Auch konnte ich sehr oft bei hochgradiger Erkrankung im Herzblute die Stäbchen direct nachweisen. Der Regel nach finden sich die Stäbchen jedoch nur in den localen Herden der verschiedenen Organe in ähnlicher Weise, wie bei der Tuberculose. Im Blute scheinen die Stäbchen sehr bald zu Grunde zu gehen. Zu einer wahren Septicämie, einer Ueberschwemmung des Blutes mit Bacillen, kommt es niemals.



Biologie und Morphologie des Erregers.

a) Züchtung.

Eine Reinzüchtung des kleinen Stäbchens gelang leicht auf den gebräuchlichen Nährböden. Sie wachsen aërob und anaërob, am besten bei Bluttemperatur; bei Zimmertemperatur ist das Wachsthum ein sehr langsames.

1. Auf Agar entwickeln sich nach 24 bis 48 Stunden bei Brüttemperatur kleine, runde, grauweisse, über die Oberfläche leicht hervorragende Colonieen, welche auch bei dichtem Wachsthum keine Neigung besitzen, zu einem homogenen Belag zusammenzufliessen (vgl. Taf. VI, Figg. 6 und 7). Bei schwacher Vergrösserung erscheinen die ganz jungen, kleinen Colonieen wenig durchscheinend, granulirt und am Rande fein gezahnt. Die grösseren Colonieen sind ganzrandig und lassen ein dunkleres, gelbes Centrum erkennen mit fein granulirter, durchscheinender Peripherie. Bei reichlicher Aussaat bleiben die Colonieen klein, punktförmig, während getrennt aufgehende Colonieen einen Durchmesser von 3 bis 4 mm erlangen können.

Das Wachsthum erreicht nach 2 bis 3 Tagen seinen Höhepunkt. Oft ist nach 24 Stunden makroskopisch noch kein Wachsthum zu erkennen. Bei schwacher Vergrösserung sieht man aber kleine, runde, granulirte Colonieen getrennt aufgehen. Die Colonieen haben namentlich in etwas älteren Culturen eine trockene, bröckelige Beschaffenheit und lassen sich daher mit der Platinöse stückweise oder in toto abheben. Mit zunehmendem Alter nimmt die Transparenz der Colonieen ab, ihre gelbliche Färbung an Intensität zu. Ein Gehalt des Nährbodens an Glycerin hat auf das Wachsthum keinen sichtbaren Einfluss.

2. Serum. Auf schräg erstarrtem Blutserum und auf Serum-Agar ist das Wachsthum ein üppiges. Die Colonieen werden grösser, prominenter und sind tiefer gelb gefärbt, wie auf Agar. Eine Peptonisirung des Serums findet nicht statt.

3. Gelatine. In Gelatine wachsen die Stäbchen innerhalb 3 bis 4 Tagen bei 20 bis 22° C. längs des Impfstiches als ein kräftiges, weisses Band, welches aus kleinen weissen nicht confluirenden Kügelchen zusammengesetzt wird. Bei schwacher Vergrösserung erscheinen die Kügelchen rund, ganzrandig, fein granulirt und von dunkelgrauer Farbe. Auf der Oberfläche der Gelatine bildet sich in der Umgebung des Stiches ein graublauer, hauchähnlicher, feiner Belag von wenigen Millimetern Durchmesser und mit zackiger Berandung. Ein Wachsen von Ausläufern in die Gelatine vom Impfstich aus findet nicht statt. Auch in alten Culturen behalten die kugelförmigen Colonieen ihre reinweisse Farbe bei.



Aehnlich ist das Wachsthum im Agarstich. Dasselbe ist oberflächlich wie in der Tiefe gleich stark. Selbst im hochgeschichteten Agar ist ein kräftiges Wachsthum zu erzielen. Auf schräg erstarrter Gelatine gelang in sehr seltenen Fällen selbst bei reichlicher Aussaat nur ein äusserst spärliches, langsames Wachsthum. Es bildete sich nur stellenweise ein bläulichweisser, feiner Belag im unteren Abschnitt des Röhrchens. Makroskopisch auffallende, abgegrenzte Bakteriencolonieen entwickelten sich in keinem Falle. Eine Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein.

4. Bouillon. In Bouillon ist meist erst nach 48 Stunden bei Brüttemperatur ein Wachsthum zu bemerken. Es bildet sich am Boden des Reagensglases ein feiner, staubartiger Niederschlag, in welchem gröbere Körnchen zu erkennen sind. Derselbe wirbelt beim Schütteln leicht in die Höhe. Tritt keine Erschütterung ein, so bleibt die überstehende Bouillon vollkommen klar. Später wird der Niederschlag mehr compacter und steigt beim Schütteln zopfartig in die Höhe. Wird die Bouilloncultur in den ersten Tagen der Entwickelung geschüttelt und der Bodensatz gleichmässig in dem Medium vertheilt, so tritt eine bleibende, leichte, diffuse Trübung der Bouillon ein, und an der Wand des Röhrchens und am Boden setzen sich kleine, weisse, körnchenartige Culturpartikel ab. Mit Beendigung des Wachsthums, welches innerhalb 8 Tagen abgeschlossen ist, tritt allmählich wieder Klärung der Bouillon ein. Es senkt sich ein staubförmiger, körniger Niederschlag zu Boden bezw. bleibt an der Glaswand haften.

Bildung eines Häutchens an der Oberfläche findet nicht statt, eine Ausscheidung von Krystallen ist in keinem Falle beobachtet worden. Das Stäbchen gedeiht in gewöhnlichem, saurem Fleischwasser ebenso gut, wie in alkalischer Bouillon mit Peptonzusatz. In Zuckerbouillon ist das Wachsthum ein sehr üppiges.

5. Milch. In der Milch ist das Wachsthum ein gutes, ohne dass eine sichtbare Veränderung, insonderheit eine Gerinnung der Milch, eintritt.

6. Kartoffel. Auf Kartoffeln beobachtet man nur ein spärliches Wachsthum. Zur Bildung von sichtbaren Colonieen kommt es nicht. Das Fortkommen des Stäbchens auf diesem Nährboden macht sich lediglich durch eine gewisse Glätte und glänzend feuchte Beschaffenheit der Oberfläche bemerkbar. Auf alkalisch gemachter Oberfläche der Kartoffel ist das Wachsthum etwas besser.

b) Chemismus des Erregers.

Im geschlossenen Schenkel des mit Zuckerbouillon gefüllten Gährungsröhrchens bildet das Stäbchen kein Gas, dem zu Folge auch nicht in Stichculturen von Zuckeragar. Der Nachweis von Schwefelwasserstoff mit Hülfe



von Bleipapier fiel negativ aus (Heim, S. 201). Die Reaction auf Indol und salpetrige Säure mittels reiner Schwefelsäure giebt ein negatives Resultat. Auch der Nachweis von Indol für sich allein mit einer 5 procentigen Lösung von Nitroprussidnatrium und Natronlauge gelang nicht, desgleichen auch nicht die Reaction auf Nitrite und Nitrate (siehe Heim, S. 210). Lackmusmolke bleibt klar und behält in den ersten 14 Tagen ihre röthliche Farbe in derselben Weise, wie bei der Einsaat des zum Vergleich herangezogenen Diphtheriebacillus. Erst nach dieser Zeit konnte zum Unterschied von dem letzteren eine leichte bläuliche Verfärbung der Lackmusmolke festgestellt werden. Das in Rede stehende Stäbchen scheint sich demnach bezüglich der Reaction des Mediums in der ersten Zeit conform dem echten Diphtheriebacillus zu verhalten, dann aber zum Unterschied von letzterem Alkali zu bilden. In gewöhnlichem sauren Fleischwasser, in welchem, wie erwähnt, das Stäbchen gut gedeiht, konnte in gleicher Weise erst nach 6 tägiger Bebrütung eine mehr amphotere Reaction mit Hülfe von Lackmuspapier constatirt werden.

Das Stäbchen bildet Toxine. Es wird durch eine 4 stündige Erhitzung auf 55° abgetödtet, desgleichen durch eine momentan einwirkende Temperatur von 76 bis 78° C.

c) Morphologie.

Der Bacillus besitzt keine Geisseln; er ist unbeweglich. Er gehört zu den Bakterien, welche in den Culturen in Form und Grösse eine grosse Variabilität aufweisen. In denselben ist das Stäbchen bedeutend grösser und dicker, wie in den Gewebsausstrichen. Nur in ganz jungen Culturen ist dieser Unterschied in Grösse und Form nicht so auffallend. Auf schräg erstarrtem Blutserum ist eine gewisse Constanz in dieser Hinsicht und auch in Betreff der Färbbarkeit zu constatiren, während bei der Züchtung auf den anderen Nährböden mit dem Aelterwerden der Culturen in Form, Grösse und Färbbarkeit auffallende Abweichungen auftreten, so dass das rein gezüchtete Stäbchen fast keine Aehnlichkeit mit den Stäbchen in den käsigen Herden mehr besitzt.

Auf Blutserum erscheint das Stäbchen etwas schlanker, ist etwa doppelt so lang wie im Thierkörper und bewahrt die reine Stäbchenform im Grossen und Ganzen. In ganz jungen Agarculturen sind die Stäbchen ca. 2 Mal länger als dick, ihre Grösse beträgt 1 bis 2 μ, ihre Dicke $= 0 \cdot 5\ \mu$. Sie sind gerade, an den Enden abgerundet und haben die charakteristische Neigung, sich parallel neben einander, pallisadenartig, oder radspeichenförmig zu lagern. Mit dem Aelterwerden der Culturen treten an den Stäbchen keulenförmige Verdickungen auf, die an Umfang und Grösse zunehmen. Dadurch entstehen Keil-, Flaschen- oder Hantel-



formen und monströs angeschwollene, kolbige Verdickungen und birnförmige Kugeln. Derartige kolbige Formen von Stäbchen treten auch vereinzelt, wie bereits erwähnt, in alten käsigen Knötchen auf, doch erreichen sie nicht die Grösse wie in den Culturen. Ausser diesen kolbigen oder keulenförmigen Formen bilden die Stäbchen Verzweigungen von **T**- oder **Y**-Form. Mit dem Entstehen dieser bizarren Wuchsformen zeigt sich eine Gliederung an den verjüngenden Enden derart, dass tief gefärbte Partieen der Länge nach mit nicht gefärbten Stellen abwechseln und das dünne Ende der Bakterienzelle aus mehreren Kügelchen, Kurzstäbchen oder Scheibchen zusammengesetzt erscheint. Vielfach hängen zwei oder mehrere dieser langen, kolbigen Formen mit ihren dünnen, segmentirten Enden zusammen. Auf diese Weise entstehen Doppelkeulen oder grosse Hantelformen. Nicht selten sind diese langen Doppelformen in der Mitte abgeknickt oder hornartig gebogen. Die grössten Formen dieser Art treten in Kartoffelculturen auf, sie erreichen in diesen eine Länge bis zu 15 μ. In 3 bis 4 Wochen alten Agar- und Kartoffelculturen bilden die langen, kolbigen Formen sehr oft aktinomycesähnliche Drusen, die dadurch zu Stande kommen, dass die dünnen, segmentirten Enden central verfilzen und die kolbenförmigen langen Ausläufer peripher gelagert sind und strahlenförmig vom Centrum herauszuwachsen scheinen. Ausser diesen kolbigen Enden sieht man häufig noch knospenförmige Auswüchse oder gabelige Verzweigungen, namentlich in Kartoffelculturen.

Während nun die Stäbchen in den Ausstrichen von den käsigen Herden, desgleichen auch aus den jungen Culturen, sich gleichmässig mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen tingiren (vgl. Taf. V, Fig. 2), tritt mit dem Alter der Culturen und dem gleichzeitigen Auftreten der beschriebenen bizarren Wuchsformen eine auffallende Veränderung in der Färbbarkeit der Stäbchen ein. Die Stäbchen färben sich nun ungleichmässig. Es treten an den Enden und dann in der Mitte der Stäbchen stärker gefärbte Körnchen von wechselnder Grösse und Gestalt auf. Die Zahl dieser metachromatischen Körperchen nimmt mit dem Alter der Cultur ständig zu; sie sind häufig grösser als die Dicke der Stäbchen. Hiermit im Zusammenhang steht auch die Beobachtung, dass mit der Zunahme dieser Körperchen die Stäbchen die Eigenschaft erlangen, die Gram'sche Färbung anzunehmen. Während in Gewebsausstrichen und in jungen 24 bis 48stündigen Culturen sich die Stäbchen bei Anwendung der Gram'schen Färbemethode selbst bei kurzer Alkoholbehandlung entfärben, färben sich dieselben in älteren Culturen sehr schön nach dieser Methode, und es treten die metachromatischen Körperchen und die kolbigen Verdickungen und blasigen Anschwellungen tief schwarzblau gefärbt hervor (vgl. Taf. V, Fig. 5).



Ein scheinbar ähnliches Verhalten konnte ich bei Prüfung von jungen und alten Agarculturen des Diphtheriebacillus constatiren, derart, dass in alten Culturen derselbe sich alkoholfester zeigte, wie in jungen Culturen. Es sei bemerkt, dass die Untersuchung in Betreff des Verhaltens der verschiedenalterigen Culturen gegenüber der Gram'schen Färbung in der Art ausgeführt wurde, dass dieselben auf einem Deckglas ausgestrichen wurden und somit gleich lange den verschiedenen Abschnitten der färberischen Procedur unterworfen wurden, so dass sich absolut sichere Anhaltspunkte ergeben mussten.

Die Körnchen, desgleichen auch die kolbigen Verdickungen lassen sich auch schön nach der Neisser'schen Methode zur Darstellung bringen. Die Anwendung dieser Doppelfärbung bei jungen, auf Serumbouillon gezüchteten, etwa 20 Stunden alten Culturen ergiebt ein positives Resultat insofern, als vereinzelte Stäbchen blaue Körnchen erkennen lassen. Meist finden sich zwei polare Körnchen; einzelne braun gefärbte Stäbchen besitzen nur ein endständiges Körnchen, es kommen aber auch drei Körnchen vor. Die Mehrzahl der braun gefärbten Stäbchen ist jedoch zum Unterschied von den echten Diphtheriebacillen ohne körnige Einlagerung. Erst mit zunehmendem Alter der Cultur steigt die Zahl der körnchenhaltigen Stäbchen.

Die Körnchen und ebenso die kolbigen Anschwellungen scheinen sich mit den Anilinfarbstoffen gewissermaassen vollkommen zu imprägniren oder dieselben in sich zu verdichten. Man sieht das besonders deutlich bei Anwendung von verdünntem Carbolfuchsin, wobei die Keulenformen und die grossen birnförmigen Kugeln eine dunkel- bis schwarzrothe Färbung annehmen, während sich die übrigen Wuchsformen des Stäbchens hellroth färben. Es scheint mir dieses Verhalten den Farbstoffen gegenüber ein Beweis dafür zu sein, dass die Keulen- und Kolbenformen nicht als Zeichen der Degeneration und des Absterbens zu deuten sind, sondern als wirkliche Wuchsformen angesehen werden müssen. Bekanntlich färben sich absterbende Bakterien, z. B. in alten Culturen, schlecht oder nehmen überhaupt keinen Farbstoff mehr an. Dazu kommt noch, dass 6 bis 8 Wochen alte Culturen, welche fast nur aus kolbigen und segmentirten Wuchsformen bestehen, sich ebenso gut überimpfen lassen und bei der Abtödtung durch Erhitzen sich ebenso widerstandsfähig zeigen, wie junge Culturen.

Infectionsversuche.

Im hohen Grade empfänglich für das isolirte Stäbchen zeigten sich weisse und graue Mäuse. Uebertragungsversuche an Feldmäusen konnte ich leider nicht ausführen, da es mir bis jetzt nicht gelang, solche zu



beschaffen. 5 Ratten, 14 Tage lang mit Culturaufschwemmungen und inficirten todten Mäusen gefüttert, zeigten keine Krankheitserscheinungen. Als sie 6 Wochen später getödtet wurden, waren sie vollkommen gesund, desgleichen auch 2 Ratten, welche je 2 ccm Bouilloncultur subcutan erhalten hatten.

Meerschweinchen, Kaninchen, Tauben und Hühner erwiesen sich als vollkommen immun bei subcutaner, intraperitonealer und intravenöser Impfung mit grossen Dosen. Auch eine mehrtägige Verabreichung virulenter Culturen in grossen Mengen mit dem Futter war vollkommen wirkungslos.

Bei 2 Meerschweinchen und 2 Kaninchen, welche 8 Tage nach der subcutanen bezw. intraperitonealen Impfung zur Controle getödtet wurden, waren bis auf einen linsen- bis pfennigstückgrossen, flachen, nekrotischen Herd in der Subcutis der Impfstelle bei den subcutan geimpften Thieren nicht die geringsten Organveränderungen nachzuweisen. Durch spätere Tödtung anderer inficirter Meerschweinchen und Kaninchen konnte festgestellt werden, dass auch die bei der subcutanen Impfung sich bildenden localen Herde vollkommen resorbirt wurden und verschwanden. 2 Ziegen, 2 Kälber, 1 Schaf wurden mit je 250 ccm, 2 Pferde und 2 Rinder mit je 500 ccm Bouilloncultur auf einmal gefüttert, welche sich bei Mäusen als höchst virulent erwies. Keines dieser Hausthiere zeigte auch nur vorübergehend eine Störung des Allgemeinbefindens. Nicht einmal eine Steigerung der Körpertemperatur trat ein.

Eine subcutane Verimpfung von 50 ccm Bouilloncultur bei einem Schafe an der inneren Schenkelfläche erzeugte eine rein locale Impfgeschwulst, ohne irgend welche Störung im Allgemeinbefinden. Eine schmerzhafte Schwellung der regionären Kniefaltendrüse trat nicht ein. Nach Verlauf von 8 Tagen war die Impfgeschwulst vollkommen verschwunden.

Es hat somit den Anschein, als ob wir es mit einem nur für Mäuse pathogenen Mikroorganismus zu thun haben, der allein bei diesen Thieren ganz bestimmte Organveränderungen erzeugt.

Mäuse sterben ausnahmslos innerhalb 4 bis 14 Tagen nach subcutaner oder intraperitonealer Impfung und fast ebenso prompt bei Fütterungsinfection. Als die niedrigste tödtliche Dosis (subcutan oder intraperitoneal) wurde 0·025 ccm festgestellt. Nach einmaliger Verfütterung von etwa 5 ccm Bouilloncultur mit Brod starben sämmtliche Insassen eines Käfigs (6 Mäuse) innerhalb 10 bis 16 Tagen aus.

Durch die künstliche Infection wurden dieselben tuberculoseähnlichen Organveränderungen verschiedenen Grades erzeugt, wie sie die durch die natürliche Infection zu Grunde gegangenen Mäuse aufwiesen. Bei der

Infection per os entwickeln sich Primärherde in den mit dem Verdauungstractus in Verbindung stehenden Lymphdrüsen (Kehlgangsdrüsen, Hals- und Gekrösdrüsen) und in den grossen Hinterleibsorganen, also Veränderungen, wie sie der Fütterungstuberculose eigenthümlich sind. Ja, es können sich wirkliche käsige Darmgeschwüre ausbilden, wodurch die Aehnlichkeit mit der echten Tuberculose noch auffallender wird. (Vgl. Taf. VI, Figg. 8 und 9.)

Der intraperitonealen Impfung erliegen die Mäuse in der Regel sehr schnell. Bei den am 3. bis 6. Tage nach der Impfung sterbenden Thieren findet man das Peritoneum parietale et viscerale mit knötchenartigen weissen, trüben Auflagerungen dicht besetzt, die Darmschlingen unter sich und mit der Milz und Leber scheinbar verwachsen. Bei genauerer Untersuchung sieht man, dass es sich nicht um organisirte Knötchen, sondern um Bakterienvegetationen handelt, die mit dem Messer bei einiger Vorsicht hautartig abgehoben werden können. Bei den später eingehenden Mäusen sind diese Auflagerungen des Bauchfelles, vollkommen verschwunden (bactericide Eigenschaft des Bauchfelles), scheinen aber an den Parenchymen in die Tiefe der Organe zu wachsen, da diese viele verschiedengrosse, knötchenförmige, peripher gelagerte Herde aufweisen.

Bei den subcutan geimpften Mäusen bildet sich ein mehr oder weniger grosser nekrotischer, käsiger Herd an der Impfstelle, welcher zur Erkrankung der regionären Lymphdrüsen (Kniefaltendrüsen) führt und weiterhin durch Einbruch der Bacillen in den Milchbrustgang und die Blutbahn zu Metastasenbildung in Lunge, Leber, Milz und Nieren Veranlassung giebt.

Auffallend war im Anfang, dass bei Fütterung mit Culturen einzelne Mäuse vielfach schon nach 3 bis 5 Tagen starben, ohne irgend welche Organveränderungen darzubieten, und ohne dass es gelang, Stäbchen im Blute nachzuweisen. Auch bei subcutan geimpften Mäusen fand sich bei frühzeitigem Tod oft nur ein kleiner, localer käsiger Abscess an der Impfstelle, welcher zu keiner Allgemeininfection oder Metastasenbildung geführt hatte, so dass dieser allerdings bacillenreiche locale Herd für sich allein nicht den Tod zur Folge gehabt haben konnte. Für diese verhältnissmässig häufigen negativen Befunde fand sich später die Erklärung, als nach der Verimpfung und Verfütterung des bakterienfreien Filtrats die Mäuse fast ebenso rasch starben, wie nach der Infection mit bakterienhaltigen Culturen. Es war hierdurch der Beweis erbracht, dass wir es bei der Infection mit dem isolirten Stäbchen nicht nur mit einer bakteriellen, sondern auch mit einer toxischen Infection zu thun haben; dass das Stäbchen, wie der echte Diphtheriebacillus, von den Localherden aus toxisch wirkt und meist hierdurch tödtet. Dass die zuletzt der



Datum	Nummer des Käfigs	Lfd. Nr. d. Versuchs-thiere	Art der Infection	Todt am	Befund
31. August 1900	I 5 weisse Mäuse	1	subcutan: 0·3 Bouillon-cultur	7. Sept.	Käsig-eitriger Herd an der Impfstelle. Linke Niere schwarzroth, doppelt so gross wie die braungelb gefärbte rechte Niere. Milz = zwei stecknadelkopfgrosse Käseherde. Vorderer rechter Lungenlappen = ein reiskorngrosser, käsiger Herd. In den nekrotischen Herden viele Stäbchen in Reincultur. Herzblut = Culturen steril, linke Niere = in mehreren Colonieen typische Stäbchen aufgegangen.
		2	0·2 desgl.	7. „	Hämorrhagische Nephritis = rechte Niere schwarzroth, doppelt so gross wie die linke. Impfstelle Käseherd. Herzblut steril.
		3	0·1 „	8. „	Käsig-eitriger Herd an der Impfstelle. Rechte Kniefaltendrüse mehrere käsige Knötchen. Rechte Niere hämorrhagisch entzündet, in der Rindenschicht zwei käsige Knötchen. Verschiedene Knötchen in der Milz, in der Leber mehrere Knötchen im mittleren Lappen. Lendendrüsen vergrössert, central verkäst. Obere Brustwanddrüsen stark vergrössert und verkäst, desgl. rechte Achseldrüse. Herzblut = typische Stäbchen.
		4	0·05 „	5. „	Halb aufgefressen. Zur Untersuchung ungeeignet.
		5	0·025 „	10. „	Nekrotischer Herd an der Impfstelle, drei stecknadelkopfgrosse käsige Knötchen in der Milz. Herzblut = keine Stäbchen.
31. August	II 5 graue Mäuse	6	0·3 subc.	8. Sept.	Käseherd an der Impfstelle. Verkäsung der Kniefalten- u. Lendendrüsen. Starker Milztumor. Lunge verschiedene miliare, graue, translucide Knötchen, stellenweise mit centraler Verkäsung. In Herzblut und Milz durch Cultur typische Stäbchen nachgewiesen.
		7	0·2 „	8. „	Umfangreiche Nekrose an der Impfstelle. Hämorrhagische rechtsseitige Pneumonie, keine Knötchen. Herzblut = steril. Lunge = Stäbch.
		8	0·1 „	13. „	Nekrose an der Impfstelle. Rechte Lendendrüse erbsengross, verkäst. Milz, Niere, Leber mehrere verschieden grosse käsige Herde: Leber = 1 sagokorngrosser Herd, Niere = erbsengrosser Knoten. Rechtsseitige käsige Pneumonie. Vorderlappen = ein grosser Käseherd. Herzblut = Stäbchen. (Siehe Taf. VI, Fig. 8.)
		9	0·05 „	6. „	Umfangreiche Nekrose an der Impfstelle, sonstiger Befund negativ.
		10	0·05 „	5. „	Angefressen. Zur Untersuchung ungeeignet.

Datum	Nummer des Käfigs	Lfd. Nr. d. Versuchs-thiere	Art der Infection	Todt am	Befund
31. August	III 6 weisse Mäuse	11	Fütterung mit 10 ccm Bouilloncultur in 2 Tagen	4. Sept.	Befund negativ. Herzblut steril.
		12		4. „	Leber = mehrere käsige Knötchen mit vielen Stäbchen. Herzblut steril.
		13		5. „	Befund negativ. Herzblut steril.
		14		6. „	Nieren, Lungen, Bronchialdrüsen = käsige Knötchen. Herzblut steril.
		15		8. „	Kehlgangslymphdrüsen stark vergrössert, in toto verkäst. In dem Käse viele Stäbchen. Herzblut steril.
		16		9 „	Kehlgangslymphdrüsen geschwollen und verkäst. Leber, Nieren = verschiedene käsige Knötchen. Milztumor. Grimm- u. Blinddarm stellenweise dunkelroth gefärbt, ihre Wand verdickt. An den betr. Stellen käsige, diphtherische Geschwüre in der Schleimhaut. Gekrösdrüsen geschwollen und verkäst. Im Ausstrich der Darmgeschwüre, Gekrösdrüsen, Leber = typische Stäbchen in grosser Zahl.
31. August	IV 6 graue Mäuse	17	Fütterung mit 10 ccm Bouilloncultur	2. Sept.	Fast vollständig aufgefressen.
		18		5. „	Befund negativ. Herzblut steril.
		19		5. „	Multiple käsige Pneumonie. Kehlgangslymphdrüsen stark geschwoll. und verkäst.
		20		7. „	Kehlgangsdrüsen und obere Halsdrüsen verkäst. Metastatische käsige Herde in Lunge und Nieren. Milztumor. Milz, Niere, Herzblut = typische Stäbchen.
		21		8. „	Kehlgangslymphdrüsen geschwollen, central verkäst. Herzblut = typische Stäbchen.
		22		9. „	Halb aufgefressen. Embolische käsige Nierenherde. Milztumor. Drei Leberherde. Brustorgane nicht mehr vorhanden.
6. Septbr.	2 Mäuse zugesetzt	23	Zum Zwecke der spontanen Infection	10. „	Kehlgangsdrüsen verkäst. Milztumor. Herzblut = typische Stäbchen.
		24		13. „	Schwellung und Verkäsung der Kehlgangsdrüsen. Mehrere käsige Knötchen in den Lungen, käsige Knötchen in Nieren und Milz. Herzblut = typische Stäbchen.



Datum	Nummer des Käfigs	Lfd. Nr. d. Versuchsthiere	Art der Infection	Todt am	Befund
13. Sept.	V 4 weisse Mäuse	25	mit Maus Nr. 8 († 13. IX.) gefüttert	17. Sept.	Angefressen, zur Untersuchung ungeeignet.
		26		21. „	Befund negativ. Herzblut steril.
		27		30. „	Kehlgangsdrüsen erbsengross, verkäst. Wenige käsige Lungenknötchen. Herzblut steril.
		28		2. Octbr.	Kehlgangslymphdrüsen geschwollen, rechte central verkäst. Milz, Nieren = verschiedene stecknadelkopfgrosse käsige Knötchen. Nierendrüsen vergrössert. Im Herzblut und Harn aus Blase = typische Stäbchen durch Cultur nachgewiesen.
13. Sept.	VI 4 graue Mäuse	29	mit Maus Nr. 24 († 13. IX.) gefüttert	18. Sept.	Aufgefressen.
		30		19. „	Befund negativ. Herzblut steril.
		31		25. „	Kehlgangsdrüsen stark geschwollen und verkäst. Herzblut steril.
		32		30. „	Kehlgangsdrüsen verkäst. Leber, Milz, Lungen = viele käsige Knötchen. Herzblutcultur positiv.
13. Sept.	In II, nicht desinficirt, in welchem subcutan geimpfte Mäuse bis zu ihrem Tode sich befanden, 2 weisse und 2 graue Mäuse gesetzt.	33	spontane Infection	22. Sept.	Angefressen, zur Untersuchung ungeeignet.
		34		23. „	Befund negativ.
		35		25. „	Milz mehrere kleine Herde. Herzblut steril.
		36		29. „	Kehlgangsdrüsen geschwollen, central verkäst. Leber wie besät mit käsigen Knötchen verschiedener Grösse. Milz geschwollen, 2 stecknadelkopfgrosse käsige Herde. Linke Niere 2 käsige Knötchen. Blinddarmspitze in eine käsige, geschwürige Masse mit Ulceration nach dem Darmlumen verwandelt, blutiger Darminhalt. Mehrere käsige Herde in der Wand des Dickdarms. Gekrösdrüsen geschwollen u. verkäst. Lendendrüsen desgl. In der rechten Lunge mehrere frische, graue, glasige Knötchen (vgl. Taf. VI, Fig. 9).

Datum	Nummer des Käfigs	Lfd. Nr. d. Versuchsthiere	Art der Infection	Todt am	Befund
5. Octbr.	VII 3 weisse Mäuse	37	Bouilloncultur intraperiton.: 0·25	8. Octbr.	Tuberculoseähnliche käsige Auflagerungen am Bauchfell. Eingeweide mit käseähnlicher Masse unter einander verklebt. Auflagerungen mit dem Messer abhebbar. Herzblut = typische Stäbchen.
		38	0·1	10. „	Knötchenförmige Auflagerungen am Bauchfell nicht mehr so deutlich. Bauchfell erscheint fein granulirt. Mehrere käsige Herde an der Oberfläche der Leber, Milz und Nieren. Herzblut = typische Stäbchen.
		39	0·5	10. „	Bauchfell keine Auflagerungen mehr nachweisbar. Milz, Leber geschwollen, mit peripher gelagerten käsigen Knötchen durchsetzt. Frische, graue, durscheinende Lungenherde. Herzblut = typische Stäbchen und Streptococcus longus.
5. Octbr.	VIII 3 graue Mäuse	40	intraperiton.: 0·25	10. Octbr.	Bauchfell leicht getrübt u. geröthet ohne käsige Auflagerung. Käsige Masse zwischen Leber und Milz und Zwerchfell. Milz, Leber = mehrere käsige, oberflächliche Herde verschiedener Grösse. Urin, Herzblut = typische Stäbchen.
		41	0·2	14. „	Beide Lungen vollständig hepatisirt u. verkäst. Leber mehrere grosse Käseherde. Milz, Nieren = vereinzelte käsige Knötchen. Lendendrüsen verkäst.
		42	0·1	15. „	Leber, Milz, Nieren = viele käsige kleine Knötchen. Herzblutcultur positiv.
22. Novbr.	IX. 5 Mäuse	43	subcutan: bakterienfreies Filtrat 0·5	6. Decbr.	Sämmtliche 5 Mäuse frei von Veränderungen. Herzblutculturen steril.
		44	0·25	5. „	
		45	0·1	12. „	
		46	intraperiton.: 0·3	3. „	
		47	0·2	5. „	



Datum	Nummer des Käfigs	Lfd. Nr. d. Versuchsthiere	Art der Infection	Todt am	Befund
22. Novbr.	X. 3 graue Mäuse	48	gefüttert mit bakterienfreiem Filtrat	30. Novbr.	Keine pathologischen Veränderungen
		49	desgl.	4. Decbr.	
		50	desgl.	13. „	
	3 weisse Mäuse	51	desgl.	27. Novbr.	
		52	desgl.	27. „	
		53	desgl.	15. Decbr.	
22. Novbr.	XI. 6 Mäuse	54	gefüttert mit junger Cultur, erhitzt auf 74° während weniger Secunden (abgetödtet)	29. Novbr.	Sämmtliche Mäuse frei von patholog. Veränderungen.
		55		6. Decbr.	
		56	gefüttert mit alter Cultur, durch Erhitzen auf 74° abgetödtet	8. „	
		57		9. „	
		58	gefüttert mit junger Cultur, durch 2 stündiges Erhitzen auf 55° abgetödteter Cultur	6. „	
		60		7. „	

Infection erliegenden Mäuse die markantesten Veränderungen, pseudotuberculöse Herde metastatischer Natur in grösserer Ausbreitung und in mehreren Organen zugleich, aufweisen, kann nicht weiter auffallend erscheinen.

Ueber das verschiedene pathologisch-anatomische Bild bei den einzelnen Infectionsarten und über die natürliche Verbreitungsweise der Seuche giebt vorstehender Auszug aus den Versuchsprotokollen eine übersichtliche Orientirung.

Durch die drei letzten Versuchsreihen ist bewiesen, dass der Bacillus, wie der echte Diphtheriebacillus, höchst giftige Stoffwechselproducte bildet, welchen die Mäuse bei subcutaner, intraperitonealer Impfung und auch bei der Einverleibung einer genügenden Menge per os nach mehr oder weniger kurzer Zeit erliegen. Diese Gifte werden durch eine vorsichtige Erhitzung, welche eben ausreicht, die Bakterien abzutödten, nicht zerstört, sie werden vom Verdauungscanal aufgenommen, ohne eine Alteration in ihrer Wirksamkeit zu erleiden. Dass die filtrirten Culturen und die durch Erhitzen abgetödteten durch Aussaat auf geeignete Nährböden hinsichtlich ihrer völligen Keimfreiheit geprüft wurden, ehe sie zu den Versuchen verwandt wurden, und dass gleichzeitig mit letzteren Controlversuche mit der virulenten, stäbchenhaltigen Cultur angestellt wurden, versteht sich von selbst.

Durch den Nachweis der Toxine in den Culturen ist bewiesen, dass die Mäuse an einer Intoxication des Körpers durch die von dem Bacillus am Orte der Infection bezw. am Orte seiner Vermehrung gebildeten giftigen Stoffwechselproducte zu Grunde gehen.

Es bleibt mir nun noch die Aufgabe, einen Vergleich mit den bisher beschriebenen Erregern pseudotuberculöser Organveränderungen bei unseren Versuchsthieren und den zur Zeit bekannten Pseudodiphtheriebacillen zu ziehen. In dieser Beziehung kommt, was die erste Frage anbelangt, nur der von Kutscher beschriebene Pseudotuberculosebacillus der Mäuse in Betracht, welcher sich für Mäuse virulent zeigte. Das von Kutscher nachgewiesene Stäbchen stimmt mit dem meinigen bezüglich der Aehnlichkeit mit dem echten Diphtheriebacillus überein, zeigt aber in der Cultur und seinen sonstigen biologischen und pathogenen Eigenschaften wesentliche Unterschiede.

Nach der Beschreibung von Kutscher ist sein Stäbchen in den nekrotischen Herden an den Enden zugespitzt, etwa von der Länge des Diphtheriebacillus, und färbt sich wegen der ungleichmässigen Vertheilung



des Protoplasmas ungleich. Das von mir isolirte Stäbchen ist in den Organausstrichen kleiner wie der Diphtheriebacillus, $^1/_2$ bis $^2/_3$ so lang wie das Rothlaufstäbchen und etwas dicker wie letzteres. Es ist überall gleich stark, an den Enden leicht abgerundet und färbt sich vollkommen gleichmässig (vgl. Taf. V, Fig. 2). Erst in den Culturen tritt die Aehnlichkeit mit dem Diphtheriebacillus in die Erscheinung. Auf Agar bildet das Kutscher'sche Stäbchen gezähnte Colonieen mit kurzen plumpen Ausläufern, auf Gelatine einen üppigen, ziemlich derben, grobkörnigen Rasen von krystallinischem Gefüge, und im Gelatinestich strahlen von einem kräftigen, weissen Impffaden kurze plumpe Ausläufer nach allen Richtungen in die Gelatine aus. Das von mir isolirte Stäbchen bildet auf Agar runde, scharfrandige, grob granulirte Colonieen mit einer durchscheinenden Peripherie und einem undurchsichtigen, trüben, gelben Centrum; auf schräger Gelatine ist sein Wachsthum höchst kümmerlich, wie beim echten Diphtheriebacillus, oder vollkommen negativ, während im Gelatinestich sich ein weisser Impffaden ohne Ausläufer bildet, welcher aus kleinen, isolirten, kugelförmigen Colonieen zusammengesetzt ist. In Bouillon bildet mein Stäbchen einen staubartigen, körnigen Niederschlag, wobei die überstehende Bouillon selbst klar bleibt, während das Kutscher'sche Stäbchen die Bouillon trübt unter gleichzeitiger Bildung eines feinkörnigen Niederschlages und starker Ausscheidung von Krystallen $(NH_4)MgHPO_4$, welche auch oft zur Bildung eines Häutchens an der Oberfläche führen.

Auf Kartoffeln konnte Kutscher kein Wachsthum erzielen, während bei meinem Stäbchen besonders auf alkalisirter Kartoffel ein deutliches Wachsthum mit Bildung der beschriebenen grossen Wuchsformen zu constatiren ist. Das Kutscher'sche Stäbchen kommt bei Luftabschluss, in der Tiefe des Stiches, nur kümmerlich fort. Mein Stäbchen dahingegen wächst selbst in hochgeschichtetem Agar zu einem kräftigen Faden in der Tiefe aus und zeigt auch gutes Wachsthum in der Buchner'schen Röhre.

Hauptunterschiede zwischen den beiden Stäbchen zeigen sich jedoch in ihrem pathogenen Verhalten. Kutscher sah nach subcutaner Impfung mit verhältnissmässig hohen Dosen (0·2 bis 0·4 ccm) stark concentrirter Aufschwemmungen Mäuse nur ausnahmsweise sterben. Meist heilte der locale, nekrotische Herd an der Impfstelle ab. In den Ausnahmen, in welchen Allgemeininfection eintrat, bildeten sich metastatische Knötchen in den Nieren und Lungen, äusserst selten in der Milz, niemals in der Leber. Intraperitoneale und intrathoracale Impfung tödtete stets; durch Inhalationen von Culturen liessen sich bei 5 bis 6maliger Wiederholung 20 Procent der Mäuse unter Erzeugung von Lungenherden inficiren.



Resultatlos dahingegen verliefen alle Versuche, Mäuse vom Darmtractus aus zu inficiren. In diesem Punkte ist der Hauptunterschied zwischen meinem und dem Kutscher'schen Stäbchen zu erblicken. Wie aus meinen Infectionsversuchen hervorgeht, zeigte sich das von mir isolirte Stäbchen, mit dem Futter verabreicht, als sehr virulent und tödtete Mäuse ausnahmslos. Durch Aufnahme der Stäbchen in den Verdauungscanal erfolgt auch die natürliche Verbreitung der Seuche. Hierauf weisen schon die primären, käsigen Herde in den mit dem Anfangstheil des Verdauungstractus in Verbindung stehenden Lymphdrüsen, weiterhin die käsigen Knötchen in Leber, Milz und in den Gekrösdrüsen und vor allen Dingen die käsig-diphtherischen Darmgeschwüre hin. Endlich konnte dieser Verbreitungsmodus experimentell sicher festgestellt werden.

Ausgeschieden wird das von mir nachgewiesene Stäbchen mit dem Kothe und dem Urin. Bewiesen ist dieses durch den Versuch, bei welchem es gelang, bei Mäusen dadurch eine tödtliche Infection hervorzurufen, dass sie in einen nicht desinficirten Käfig gesetzt wurden, in welchem vorher subcutan geimpfte Mäuse bis zu ihrem Tode sich befanden. Dass letztere mit der zu dem Versuch erforderlichen Vorsicht geimpft wurden, welche einen Austritt der Erreger aus der Impfstelle unmöglich machte, ist selbstredend. Es gelang mir aber auch in mehreren Fällen, durch Anlegen von Culturen den directen Nachweis virulenter Stäbchen im Blaseninhalt und in dem Kothe der mit Darmgeschwüren behafteten Mäuse zu erbringen.

Wir haben demnach zwei verschiedene Arten von Stäbchen zu unterscheiden, welche im Stande sind, bei Mäusen pseudotuberculöse Processe zu erzeugen, und die beide derselben Species angehören, nämlich der grossen Gruppe der Pseudodiphtheriebacillen.

Das von Kutscher nachgewiesene Stäbchen inficirt Mäuse vom Respirationstractus aus, das von mir isolirte Stäbchen wird mit dem Futter aufgenommen, dringt vom Verdauungstractus aus in den Körper und erzeugt in den mit demselben in Verbindung stehenden Organen die ersten specifischen Veränderungen.

In letzter Zeit sind verschiedene Arbeiten über Funde von Pseudodiphtheriebacillen publicirt worden. Gromakowsky (31) untersuchte 81 Culturen von Pseudodiphtheriebacillen verschiedener Provenienz, die theils aus dem Secret der Conjunctiva, theils aus dem Pharynx bei Anginen stammten. Auf Grund seiner Untersuchungen kommt Gramakowsky zu dem Schlusse, dass drei Arten von Pseudodiphtheriebacillen existiren, welche sich hauptsächlich durch ihr Wachsthum in Bouillon unterscheiden und für Versuchsthiere nicht pathogen sind. Nakanishi (30) beschrieb als einen neuen, constant in Vaccinepusteln vorkommen-



den Mikroorganismus einen Pseudodiphtheriebacillus, der vor ihm von vielen anderen Autoren bereits gesehen und beschrieben war. Die Vermuthung einer ätiologischen Bedeutung des Stäbchens für die Pockenerkrankung liess Nakanishi bald fallen, als es ihm und mit ihm fast gleichzeitig Ficker (32) und Czaplewski (33) gelang, den Nachweis zu führen, dass dieser Pseudodiphtheriebacillus auf der Haut des Menschen und der Rinder als ganz gewöhnlicher Hautepiphyt vorkommt und von hier aus in die Lymphe gelangt. Ascher und Symanski (33) konnten das Stäbchen auch auf dem Lattenwerk des Stallbodens, auf welchem Kälber lagen, nachweisen. Czaplewski (33) hat auf der Haut von Enten diphtherieähnliche Stäbchen feststellen können.

Cobbet (34) züchtete aus dem Nasensecret eines Pferdes, welches an blutig-eiterigem Nasenkatarrh, verbunden mit Drüsenschwellung und Athemnoth (Druse?), litt, ein dem Diphtheriebacillus ähnliches Stäbchen. Dieser Bacillus erwies sich als pathogen bei Meerschweinchen, wie der echte Diphtheriebacillus. Durch Diphtherieantitoxin konnte die tödtliche Wirkung des Bacillus und des Toxine enthaltenden Filtrats von Bouillonculturen aufgehoben werden. Verfasser hält auf Grund dieser Beobachtung und der Uebereinstimmung im culturellen Verhalten des aus dem Nasensecret des Pferdes gezüchteten Stäbchens mit dem echten Diphtheriebacillus beide für identisch.

Vor kurzer Zeit konnte ich im Nasendeject eines brustseuchekranken Pferdes diphtherieähnliche Stäbchen nachweisen und aus dem Eiter eines Lymphdrüsenabscesses von einem drusekranken Pferde solche Stäbchen züchten. Ob letztere mit dem Diphtheriebacillus identisch sind, wie dies Cobbet für das von ihm aus ähnlichem Material isolirte diphtherieähnliche Stäbchen nachgewiesen zu haben glaubt, hatte ich mir nicht zur Aufgabe gestellt, zu entscheiden. Ich hatte diesen Fund von diphtherieähnlichen Stäbchen in der Nasenhöhle des Pferdes nur als ein interessantes Vorkommniss registrirt, ohne Kenntniss zu haben von einem ähnlichen Funde; sonst würde ich nicht unterlassen haben, vergleichende Untersuchungen anzustellen.

Nach den verschiedenen Fundorten zu schliessen, bilden die Pseudodiphtheriebacillen eine grosse Gruppe weit verbreiteter Saprophyten. Ob dieselben alle identisch sind, ist höchst fraglich. Roux und Yersin (37) nehmen an, dass der Pseudodiphtheriebacillus eine nicht pathogene Varietät des echten Diphtheriebacillus darstellt. Behring (38) ist derselben Ansicht. Spronck (39) dagegen nimmt eine specifische Verschiedenheit der Pseudodiphtherie- von den Diphtheriebacillen an. Er fand, dass einzelne Stämme von Pseudodiphtheriebacillen bei subcutaner Impfung Oedem, verbunden mit vorübergehenden Allgemeinerscheinungen, erzeugen, dass aber



gegen diese Affectionen das Diphtherieantitoxin keine schützenden Eigenschaften besitzt.

Czaplewski (33) spricht sich dafür aus, dass der Mensch und die verschiedenen Thierarten ihre besonderen Pseudodiphtheriebacillen als Hautepiphyten besitzen. Alle aber haben das Gemeinsame, und dadurch unterscheiden sie sich von dem von mir isolirten Pseudodiphtheriebacillus, dass sie für Mäuse und Meerschweinchen unschädlich sind und, wie aus den Impfungen der Kinder hervorgeht, offenbar auch für den Menschen.

Czaplewski (33) hat für die Pseudodiphtheriebacillen, welche zu den Corynebakterien gehören, in Anbetracht des Umstandes, dass sie sich von den gewöhnlichen Bakterien durch ihre Neigung zur Bildung von Verzweigungen unterscheiden, nach Analogie der Bezeichnung „Streptothrix, Leptothrix" den Namen „Corynethrix" vorgeschlagen. Hiernach wäre der von mir nachgewiesene Pseudodiphtheriebacillus als „Corynethrix pseudotuberculosis murium" zu bezeichnen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Hrn. Professor Dr. Ostertag, für das freundliche Interesse an dieser Arbeit und die Unterstützung, die er mir hat zu Theil werden lassen, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.



Litteratur-Verzeichniss.

1. Malassez und Vignal, Tuberculose zoogléique. *Arch. de Physiol. normale et pathol.* 1883/84.

2. Eberth, Der Bacillus der Pseudotuberculose des Meerschweinchens und Kaninchens. Virchow's *Archiv.* 1886. Bd. XIII.

3. Charrin und Roger, Sur une pseudo-tuberculose bacillaire. *Comptes rend. de l'Acad. des sciences de Paris.* 1888.

4. Dor, Pseudo-tuberculose bacillaire. *Ebenda.* 1888.

5a. Nocard und Masselin, Sur un cas de tuberculose zoogléique d'origine bovine. *Compt. rend. de la soc. de biologie.* 1889.

5b. Nocard, Sur la tuberculose zoogléique. *Ebenda.* 1889.

6. Pfeiffer, *Ueber die bacilläre Pseudotuberculose der Nagethiere.* Leipzig 1888.

7. Nocard, Le farcin du boeuf. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1888.

8. Courmont, Sur une tuberculose mikrobienne et particulière du boeuf. *Ebenda.* 1889.

9. Zagari, Sulla cosidetta tuberculosi Zoogleica e Pseudotuberculose bacillare. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VIII. S. 208.

10. Grancher u. Ledoux-Lebard, Recherches sur la tuberculose zoogléique. *Arch. de méd. expér. et d'anatom. pathol.* 1889 und 1890.

11. Vincenzi, Pseudotuberculose. *Giornale della R. Acad. de medic. di Torino.* 1890. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1890.

12. Kitt, Zur Kenntniss tuberculoseähnl. Zustände der Lunge des Rindes (bac. käsige Pneumonie). *Monatshefte für praktische Thierheilkunde.* 1890. Bd. I.

13. Parietti, Eine Form von Pseudotuberculose. *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1890. Bd. VIII. Nr. 19.

14. Preisz u. Guinard, Pseudotuberculose chez le mouton. *Journal de méd. vétér.* 1891. T. XLII.

15. Galli-Valerio, Pseudotuberculosi del maiale. *Giornale della R. Soc. e Acad. vétér. ital.* p. 86.

16. Mazza und Mensi, La pseudotubercul. nell' nomo. *Gazz. med. di Torino.* Vol. XLVII.

17. Mégnin und Mosny, Pseudotuberculose der Hasen. *La semaine médicale.* 1891. — Baumgarten's *Jahresbericht.* 1895.

18. Preisz, Recherches comparatives sur les Pseudotuberculoses bacillaires et une nouvelle espèce de pseudotuberculose. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1894.

19. Kutscher, Beitrag zur Kenntniss der Pseudotuberculose der Nagethiere. *Diese Zeitschrift.* 1894. Bd. XVIII.



20. Delbanco, Ueber die Pseudotuberculose der Nagethiere. Ziegler's *Beiträge zur patholog. Anatomie.* Bd. XX. S. 477.

21. Woroneff und Snieff, Zur pathologischen Anatomie u. Bakteriologie der bacillären Pseudotuberculose. *Centralblatt für allgem. Pathologie.* Bd. VIII. Nr. 15/16.

22. Galli-Valerio, Tuberculosi del maiale. *Giornale della R. Soc. e Accadem. Veter. ital.* 1896. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XX.

23. Bettencourt, Pseudotuberculose beim Meerschweinchen nach Impfung mit adenoiden Rachenwucherungen. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1897.

24. Bonome, Sulla pseudotuberculosi microbia. *Arch. per le Scienze med.* XXI. Nr. 4. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1897.

25. Ledoux-Lebard, De l'action du sérum pseudo-tuberculeux sur le bacille de la pseudo-tuberculose. *Annales de l'Institut Pasteur.* T. XI. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1897.

26. Courmont, Sur une nouvelle tuberculose strepto-bacillaire d'origine humaine. *Comptes rendus de la Soc. de Biolog.* Nr. 35. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1897/98.

27. Hayem, Pseudotuberculose bacillaire. *La semaine méd.* 1891. Ref. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1891.

28. Leroy, Recherches bactériologiques à propos d'une tuberculose bovine atypique 1891. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1891.

29. Tursky, Die Pseudotuberculose der Schafe. *Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene.* 1897.

30. Nakanishi, Bac. variabilis lymphae vaccinalis. *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. XXVII. Nr. 18/19. — Bd. XXVIII. Nr. 10/11.

31. Gromakowsky, Die differentielle Diagnose verschiedener Arten von Pseudodiphtheriebacillen und ihr Verhältniss zur Doppelfärbung nach M. Neisser. *Ebenda.* Bd. XXVIII. Nr. 4/5.

32. Ficker, Ueber den von Nakanishi aus Vaccinepusteln gezüchteten neuen Bacillus. *Ebenda.* Bd. XXVIII. Nr. 17.

33. Czaplewski, Zur Bakteriologie der Lymphe. *Deutsche med. Wochenschrift.* Bd. XXVI. Nr. 15.

34. Cobbett, Diphtherie beim Pferde. *Centralbl. f. Bakteriologie.* Bd. XXVIII. Nr. 19.

35. Ostertag, *Handbuch der Fleischbeschau.* 1899.

36. Kitt, *Bakterienkunde.* 1899.

37. Roux und Yersin, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1890.

38. Behring, *Geschichte der Diphtherie.* 1893.

39. Spronck, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896. Nr. 36.

40. Heim, *Lehrbuch der Bakteriologie.* 1898.

41. Chorvy und Bull, Caseous Lymphatic glands (Pseudo-Tuberculosis). *Berliner thierärztl. Wochenschrift.* 1900. Nr. 31. Orig. *Intercolonial Medial Journal of Austria.* 20. V. 1899.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. V u. VI.)

Die Photogramme Figg. 1, 2, 3, 5 sind mit Leitz Oelimmersion $^1/_{12}$ und Ocular 4 (Vergrösserung = 1000fach) mit Auer'schem Gasglühlicht aufgenommen, und zwar mit Hülfe des verticalen mikrophotographischen Apparates.

Das Photogramm Fig. 4 ist mit Leitz Oelimmersion $^1/_{12}$ und Ocular 1 aufgenommen, Fig. 6 mit Leitz Object. 4, Ocular 1. Fig. 7 entspricht der natürlichen Grösse und ist mit einer gewöhnlichen achromatischen Landschaftslinse hergestellt.

Die Photogramme Figg. 8 u. 9 sind unter Wasser bei auffallendem Lichte mit Hülfe des verticalen Apparates, in dessen Hals ein photographisches Objectiv — Periplan 64 ^{mm} — eingeschraubt wurde, aufgenommen.

Fig. 1. Deckglasausstrich aus einer total verkästen Kehlgangslymphdrüse, gefärbt mit Carbolfuchsin.

Fig. 2. 48stündige Agarcultur.

Fig. 3. 10tägige Bouilloncultur.

Fig. 4. Knötchenförmige Auflagerung des Bauchfelles einer nach 4 Tagen gestorbenen, intraperitoneal geimpften Maus. Die Auflagerung abgezogen vom Bauchfell, auf einem Deckglas glatt ausgebreitet und mit verdünntem Carbolfuchsin gefärbt: dichte Bakterienvegetationen in und ausserhalb der Zellen, bei Lupenbetrachtung deutlicher erkennbar. (Vergrösserung = 500 fach.)

Fig. 5. 14 tägige Kartoffelcultur, aktinomycesähnliche Drusen von Bacillen mit langen, keulenförmigen Verdickungen, gefärbt nach Gram.

Fig. 6. 48stündige Agarplatte.

Fig. 7. Agar- und Gelatinestichcultur in ziemlich natürlicher Grösse.

Fig. 8. Subcutan geimpfte Maus (Nr. 8 des Protokolls) mit Verkäsung der Kniefaltendrüsen und der Lendendrüsen, metastatische Käseherde in Leber, Milz, Nieren, Lungen.

Fig. 9. Spontan inficirte Maus (Nr. 36 des Protokolls). Verkäsung der Kehlgangslymphdrüsen *K*. Viele käsige Knötchen verschiedener Grösse in der Leber *L*, einige Knötchen in Milz *M* und Nieren. Käsige, nekrotische Herde bezw. Geschwüre im Dickdarm *D* und Blinddarm *Bl*. Vergrösserung und Verkäsung der Gekrösdrüsen *G*.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität München.]

Ueber das Verhalten der baktericiden Kraft des Kaninchenserums bei der Milzbrandinfection.

Von

Dr. **M. Wilde,**
Assistenten des Instituts.

Nach der Lehre des Begründers der Alexintheorie beruht die natürliche Widerstandsfähigkeit, welche der Organismus der erfolgten Infection mit Bakterien entgegensetzt, hauptsächlich auf dem Gehalt seines Blutes an Schutzstoffen — Alexinen —, deren Vorhandensein sich auch ausserhalb des Körpers dadurch leicht feststellen lässt, dass in kleine Mengen frischen Blutes oder Blutserums eingesäte Bakterien eine deutliche Verminderung oder bei kleinerer Einsaat vollständige Abtödtung erleiden. Trotz vielfacher Angriffe hat diese Anschauung immer weitere Anerkennung gefunden; experimentelle Bestätigung brachten neben anderen besonders die Arbeiten von Denys und seinen Schülern (siehe Litteraturverzeichniss Nr. 1 und 2), welche in Uebereinstimmung mit den Forderungen der Theorie zeigten, dass das Blut des mit Milzbrand inficirten Kaninchens, wenn die Bacillen im circulirenden Blute auftreten, auch seine baktericide Kraft verloren hat; auch das Fehlen einer baktericiden Wirkung des Hundeserums auf Milzbrandbacillen, obwohl Hunde für Milzbrand fast unempfänglich sind, fand durch sie eine Erklärung dahingehend, dass erst unter dem Einfluss der Infection die baktericiden Stoffe in deren Blute auftreten. So schienen diese Fragen in befriedigender Weise gelöst, bis Conradi (3) in einer auf zahlreiche Versuche an Kaninchen und Hunden gestützten Arbeit zu gerade entgegengesetzten Resultaten gelangte. Bei der Wichtigkeit dieser Frage für ein klares Verständniss der Schutzwirkung des Blutes



im Organismus folgte ich gerne der Aufforderung meines verehrten Chefs, Professor Buchner, die Aufsehen erregenden Ergebnisse der Conradi'schen Arbeit einer Nachprüfung zu unterziehen, wobei ich mich in vorliegender Abhandlung auf die Erforschung der Verhältnisse beim Kaninchen beschränke.

Da Conradi seiner Abhandlung eine eingehende Besprechung der einschlägigen Litteratur vorausschickt, so verzichte ich, um den Lesern dieser Zeitschrift nicht Bekanntes zu wiederholen, auf eine nochmalige Referirung derselben, nur auf einen Punkt seiner Darstellung möchte ich eingehen. Bei Erwähnung der Buchner'schen Anschauung über die Natur der Alexine sagt Conradi (3 S. 186): „Während er (Buchner) früher sich die Anschauung gebildet hatte, dass das im Blute wirksame Agens der Gruppe der Eiweissstoffe angehöre, neigt er sich heute, nach dem Vorgange von Emmerich und Löw, der Ansicht zu, dass die Schutzstoffe als proteolytische Enzyme als „Endoenzyme" anzusprechen seien." Die Charakterisirung der Schutzstoffe als proteolytische Enzyme erscheint hiernach als eine Concession Buchner's; in Wirklichkeit erfolgte dieselbe auf Grund der von ihm, Hahn und anderen Autoren experimentell bewiesenen Herkunft der Alexine aus den Leukocyten und der von Th. Leber schon früher ermittelten Production von histolytischen Enzymen durch letztere. Emmerich und Löw (4) dagegen haben über die Herkunft und Natur der Alexine total andere Ansichten; nach ihnen verdanken sie, wie die specifischen Immunkörper, ihren Ursprung den von den Bakterien selbst producirten bakteriolytischen Enzymen, welche unter normalen Verhältnissen etwa aus dem Darm resorbirt und mit dem Körpereiweiss zu Proteïdinen verbunden sein sollen. Der Begriff der „Endoenzyme" ferner wurde zuerst ebenfalls im Buchner'schen Laboratorium, und zwar von Hahn und Geret (5) entwickelt auf Grund ihrer Forschungen über das proteolytische Endoenzym der Hefezelle.

Conradi's erste Versuche (I bis VII) führen den Nachweis, dass durch intravenöse Injection einer Aufschwemmung von Milzbrandbakterien die baktericide Kraft des Kaninchenserums für Milzbrandbacillen nicht aufgehoben wird; ich habe diese Angaben einer Nachprüfung nicht unterzogen, da es mir von vornherein nicht leicht möglich erschien, dem Kaninchen eine genügend grosse Menge von Milzbrandbacillen einzuverleiben, um eine sofortige Aufhebung der Alexinwirkung seines Serums zu erreichen; wie ich mich gelegentlich anderer Versuche überzeugt habe, bedarf es dazu jedenfalls ganz gewaltiger Massen von Anthraxbacillen. Um z. B. die hämolytische Wirkung des Kaninchenserums auf Meerschweinchenblut aufzuheben, muss man nach meinen Erfahrungen $^1/_2$ bis 1 ccm concentrirte Milzbrandbacillenemulsion zu 2 ccm Serum hinzufügen,



und auch dann wird erst nach einiger Zeit alles Alexin gebunden oder vernichtet, so dass zugefügtes Meerschweinchenblut unverändert bleibt; bei kleineren Mengen wird dieser Effect erst nach Ablauf von 6 bis 8 Stunden erreicht, wenn die zugefügten Bakterien sich wieder zu vermehren beginnen, also sicher alles Alexin verschwunden ist. Auch die Versuche von Schneider (7) und Kruse-Bonaduce (6), welche abgetödtete Bakterien zu kleinen Mengen Blutes bezw. Blutserums hinzufügten und dann dessen baktericide Kraft vermindert oder aufgehoben fanden, zeigen, dass es hierzu relativ sehr grosser Mengen bedarf. Um aber den gleichen Effect im lebenden Körper gegenüber der Gesammtmenge der Schutzstoffe des Kaninchens zu erzielen, dazu dürften die von Conradi verwendeten Quantitäten nur in seltenen Fällen ausreichen, und so ist es erklärlich, dass er bei seinen bezüglichen Versuchen keine Verminderung der baktericiden Kraft bemerken konnte.

Die zweite und dritte Versuchsreihe Conradi's beschäftigen sich mit dem Verhalten der baktericiden Wirkung des Kaninchenserums während der Milzbranderkrankung, bei welcher er zwei Perioden unterscheidet.

In der ersten Periode ist die Erkrankung noch local, d. h. bei intravenöser und, wie ich nach meinen Erfahrungen hinzufügen kann, auch bei intraperitonealer Infection finden und vermehren sich die Bacillen in den inneren Organen, besonders Milz, Leber, Lunge, bei subcutaner Infection in diesen und in dem Unterhautzellgewebe der Impfstelle — denn auch bei letzterem Infectionsmodus gelangen die Milzbrandbacillen schon sehr bald in die inneren Organe (Frank und Lubarsch [8 S. 276]). In diesem localen Stadium der Erkrankung erleidet sowohl nach dem Urtheil Conradi's wie nach der überwiegenden Mehrzahl der übrigen Autoren das Blut keine Verminderung in seinem Bestande an Schutzstoffen. Dies Resultat steht auch mit den Lehren der Alexintheorie durchaus im Einklang, denn, selbst wenn gewisse Mengen dieser Schutzstoffe schon jetzt im Contact mit den Anthranbacillen zu Grunde gehen, so lässt sich doch erwarten, dass der Organismus in den meisten Fällen die zu relativ kleinen Verluste bald wieder zu ersetzen vermag; wissen wir doch, dass er ausser den in seinem Blute frei vorhandenen noch in seinen zelligen Elementen, jedenfalls in den Leukocyten, Vorräthe an Schutzstoffen besitzt, welche er jedenfalls bei seinem Kampfe nicht unausgenützt lassen wird; ja es ist sogar leicht möglich, dass es unter diesen Umständen zu einer Steigerung der baktericiden Kraft des Blutserums kommen kann, wie es Denys und Kaisin (1 S. 375 bis 376) auf Grund ihrer allerdings nicht einwandsfreien Versuche annehmen; andererseits ist aber auch der Fall möglich, dass schon in dieser Periode das baktericide Vermögen eine Verminderung erfährt, wenn nämlich das-

selbe von vornherein sehr gering ist, wenigstens glaubt Lubarsch (10 und 11 S. 137 bezw. 214) aus einigen Versuchen diesen Schluss ziehen zu dürfen.

Während nun in diesem ersten Krankheitsstadium die Kaninchen noch keine klinischen Symptome erkennen lassen, wird nach Conradi durch deren Auftreten die zweite Periode der Erkrankung eingeleitet, in welcher sich die Milzbrandbacillen zahlreich im circulirenden Blute vorfinden. Conradi zieht nun aus einer 7 Versuche umfassenden Reihe den Schluss, dass auch in dieser zweiten Periode die baktericide Wirksamkeit des Blutes ungeschwächt bestehen bleibt.

Dies Resultat steht sowohl mit den Ergebnissen von Szekely's und Szana's (12 S. 67) als auch der belgischen Forscher im schroffsten Widerspruch; auch ist es nur schwer mit unserer bisherigen Anschauung von der Bedeutung der Schutzstoffe des Blutes bei der Bekämpfung der in den Organismus eingedrungenen Bakterien in Einklang zu bringen. Denn wenn es wirklich eine „Periode“ giebt, in welcher Milzbrandbacillen und Schutzstoffe dauernd neben einander im Blute vorhanden sind, ohne dass der eine oder andere Theil die Oberhand gewinnt und den Gegner vernichtet oder unschädlich macht, dann würden wir mit Recht daraus schliessen müssen, dass die Alexine in unserem Organismus durchaus nicht die Kraft und Bedeutung entfalten, welche wir bei unseren Versuchen in vitro zu finden gewohnt sind. Da nun, wie oben ausgeführt, die Resultate der beiden ersten Versuchsreihen Conradi's durchaus mit der Alexintheorie in Einklang stehen, diese letzte aber die schwersten Bedenken hervorrufen muss, so habe ich meine Nachprüfung wesentlich auf diese beschränkt, um durch möglichst sorgfältige und zahlreiche Versuche sur Klärung dieser Frage beitragen zu können.

Schon bei meinen ersten Versuchen zeigte es sich, dass die Conradi'sche Darstellung geeignet ist, durchaus falsche Vorstellungen des Krankheitsverlaufes zu erregen. Die beiden „Perioden“ Conradi's sind nämlich von so ungleicher Länge, dass, während die erste 1 bis 2, zuweilen 4 Tage umfasst, die zweite höchstens die Dauer von 2 bis 3 Stunden, meistens nicht ein Mal von 1 Stunde erreicht; ja ich beobachtete, dass die Kaninchen sich oft bis wenige Minuten vor ihrem Tode vollständig wohl und munter zeigten, und wenn sich dann bei der mikroskopischen Untersuchung Bacillen im Blute nachweisen liessen, dann war es oft schon zu spät, und in der kurzen Zeit, die erforderlich ist, um die Thiere für die Operation vorzubereiten, starben sie mir unter den Händen. Da es mir nicht ausgeschlossen schien, dass dieser sehr unerwünschte Krankheitsverlauf durch den von mir zunächst verwendeten Milzbrandstamm unserer Sammlung bedingt sein könnte, so



verschaffte ich mir durch das freundliche Entgegenkommen der Hrn. Professor Forster und Dr. Conradi denselben Milzbrandstamm, den letzterer Autor bei seiner Arbeit benutzte; aber auch so blieb das Ergebniss das gleiche: die zweite „Periode“ ist gleichbedeutend mit der Agonie der Thiere, und wie Conradi bei dieser Gelegenheit mittheilte, erfolgt auch nach seinen Beobachtungen das Einwandern der Milzbrandbacillen in grossen Mengen in das Blut erst in der Agonie. Leider hat Conradi die Erwähnung dieses für die Erklärung der so verschiedenen Resultate der einzelnen Autoren sehr wichtigen Umstandes in seiner Arbeit unterlassen; im Gegentheil, seine Schilderung ist geeignet die Vorstellung zu erwecken, als ob es sich hier um einen längeren Zeitraum handle. „Innerhalb weniger Stunden,“ heisst es (S. 198), „ziehen diese spärlichen Eindringlinge“ (d. h. die Milzbandbacillen, die sich auch schon während der ersten Periode im circulirenden Blute vorfinden) „immer neue Schaaren nach sich, und zu guterletzt ist die Blutbahn von Milzbrandbakterien förmlich überschwemmt;“ da nun, wie Conradi mittheilt, die Krankheitsdauer je nach dem Infectionsmodus zwischen 30 bis 50 Stunden schwankt, so hat man durchaus den Eindruck, dass diese zweite „Periode“ ebenfalls längere Zeit andauern möge. Thatsächlich aber schwankt der Beobachter, der gerade in diesem, für die Lösung unserer Frage einzig in Betracht kommenden Stadium das Verhalten des Blutes festzustellen sucht, gewissermaassen zwischen Scylla und Charybdis: auf der einen Seite die Gewissheit, bei einer zu frühen Blutentnahme den Bestand des Blutes an Schutzstoffen noch fast unangetastet zu finden, auf der anderen Seite die Furcht, bei zu langem Zögern durch den Tod das Thier vor der Blutentnahme überhaupt nutzlos zu verlieren. So musste leider eine wahre Hekatombe von Kaninchen geopfert werden, ehe die folgenden Resultate erhalten wurden, zumal da weder das Auftreten der klinischen Symptome noch das Verhalten der Temperatur auf die bevorstehende Katastrophe mit der wünschenswerthen Sicherheit vorbereiten. Dazu kommt noch ein weiterer erschwerender Umstand. Die Kaninchen haben eine individuell sehr verschiedene Empfänglichkeit für Milzbrand (Frank und Lubarsch [8 S. 270 u. ff.]); man ist daher nicht in der Lage, den Tod des Thieres auch bei Verwendung von Infectionsmaterial von gleicher Menge und Virulenz einigermaassen sicher voraus zu bestimmen.[1] Dementsprechend zeigt ja auch in vitro das Serum verschiedener Kaninchen ein ganz ungleiches baktericides Vermögen gegenüber

[1] Wenigstens war dies bei dem von mir verwendeten Milzbrandstamm der Fall; derselbe wäre also nach Sobernheim (17 S. 312) nicht als vollvirulent zu bezeichnen.



Milzbrandbacillen, und deshalb darf, um eine etwaige Steigerung oder Abnahme desselben in Folge der Infection zu constatiren, zum Vergleich nur das normale Serum desselben Thieres herangezogen werden, wie Lubarsch und Conradi mit Recht verlangen. Letzterer scheint übrigens in Bezug auf die Krankheitsdauer gleichmässigere Resultate gehabt zu haben, wenigstens erwähnt er diese Schwierigkeit nicht.

Aber auch wenn es glücklich gelungen ist, dem Thiere im richtigen Momente das für den baktericiden Versuch nothwendige Blut zu entziehen, so können noch Umstände eintreten, welche eine exacte Ausführung desselben vereiteln. Die Gerinnungsfähigkeit des mit Milzbrandbacillen überschwemmten Blutes ist nämlich häufig beeinträchtigt, so dass sich kein fester Blutkuchen bildet; das nach 24stündigem Stehen im Eisschrank ausgetretene Serum hat dann die unangenehme Eigenschaft, bei Aufenthalt im Thermostaten bei 37° oft nachträglich zu gerinnen; in solchen Fällen musste natürlich auf die Ausführung des baktericiden Versuches verzichtet werden.

Ueberhaupt wird mir Jeder, der sich mit derartigen Untersuchungen beschäftigt hat, Recht geben, wenn ich gerade den Milzbrandbacillus für baktericide Versuche mit Hülfe der Plattenmethode für wenig geeignet halte (vgl. Denys und Kaisin [1 S. 341]). Schon seine Eigenschaft, in flüssigen Nährsubstraten, also auch im Serum, lange Ketten zu bilden, beeinträchtigt sehr die Genauigkeit der Methode; man findet dabei natürlich immer zu kleine Zahlen, da eine Colonie auf der Platte nicht einem einzelnen Individuum, sondern einer oft sehr langen Reihe derselben entspricht. Auch wird durch diese Fadenbildung die gleichmässige Vertheilung der Bacillen in der Flüssigkeit behindert, wenn diese auch in den kleinen Mengen Serum, welche man gewöhnlich bei baktericiden Versuchen verwendet, nicht so weit geht, als bei Bouillonculturen, in denen die Milzbrandbacillen ja nur ein Convolut von langen Fäden am Boden des Reagensglases zu bilden pflegen.

Conradi hat dadurch eine grössere Genauigkeit der Plattenmethode zu erzielen gesucht, dass er zur Einsaat nur Herzblut eines an Milzbrand soeben verendeten Meerschweinchens benutzte; im Blute derselben bildet der Milzbrandbacillus ja bekanntlich nur ganz kurze Ketten (obwohl ich gelegentlich auch hier Fäden bis zu 8 Gliedern beobachtete), während in Aufschwemmungen von Milzbrandculturen solche von 30 und mehr Gliedern nicht selten sind. Conradi erhielt also bei Verwendung solchen Blutes zur Einsaat sicherlich Colonieenzahlen, welche der Wahrheit näher kommen als bei Benutzung von Culturemulsionen; übrigens kann durch geeignete Zusammensetzung des Nährmaterials auch in Culturen die Bildung langer



Fäden verhindert werden. Aber man ersieht leicht, dass dieser Vortheil zugleich wieder eine neue Ungenauigkeit bedingt, denn wie man sich durch mikroskopische Untersuchung überzeugen kann, wachsen die eingeimpften einzelnen Bacillen im Serum doch zunächst wieder zu langen Ketten heran, die dann auf der Platte auch nur eine Colonie bilden werden; es ist klar, dass auf diese Weise eine ziemlich beträchtliche Vermehrung übersehen werden kann.

Ich habe daher solches Blut zur Einsaat nur in einzelnen Fällen benutzt, im Allgemeinen verwendete ich Bouillonemulsionen von Milzbrandbacillen, welche von 24stündiger Agarcultur entnommen wurden und vor dem Vermischen mit der Bouillon an der mit der Bouillon nur angefeuchteten Wand des Reagensglases sorgfältig mit der Platinöse verrieben wurden: auf diese Weise erhält man sehr gleichmässige Emulsionen von beliebiger Concentration, von denen dann Mengen von einigen Tropfen zur Verwendung kamen. Um eine möglichst gleichmässige Vertheilung der eingesäten Bacillen zu erreichen, wurden die Röhrchen mit dem Blutserum in einem in dem Blutschrank angebrachten Schüttelapparat gehalten, in dem sie ca. 10 Mal pro Minute bis fast zur Horizontalen geneigt und wieder aufgerichtet wurden; neben der besseren Vertheilung wird auch das Wachsthum wohl hauptsächlich durch den vermehrten Sauerstoffzutritt beschleunigt, wie die Beobachtung geschüttelter und ruhig stehender Bouillonculturen deutlich zeigte (vgl. A. Hegeler [13 S. 117]).

Auch ich machte, wie andere Autoren, Kruse-Bonaduce (6 S. 365), Walz (14), Bail (15), die Beobachtung, dass Kaninchenserum den Milzbrandbacillen gegenüber eine bemerkenswerthe Eigenschaft besitzt; inactivirt man nämlich frisches Kaninchenserum in der gewöhnlichen Weise, indem man es $^1/_2$ Stunde lang im Wasserbad auf 55 bis 60° erhitzt, so hat dasselbe häufig seine baktericide Wirkung auf Milzbrandbacillen nicht eingebüsst, wenigstens nicht vollständig, während seine hämolytische Wirkung auf Meerschweinchenblut und sein baktericides Vermögen gegen andere Bacillen verschwunden ist, wie folgender Versuch zeigen möge.

Versuch I.

Benutzt wurde 24 Stunden altes Kaninchenserum (natürlich für alle Röhrchen von demselben Thiere) und zum Vergleich 2 × 24 Stunden altes Rinderserum. In die mit *T* bezeichneten Röhrchen wurden je 2 Tropfen 24 stündiger Typhusbacillenbouilloncultur ausgesät, in die mit *M* bezeichneten je 2 Tropfen einer Emulsion von Milzbrandbacillen aus 24 stündiger Agarcultur in Bouillon. Die Zählplatten wurden bei diesem wie bei allen folgenden Versuchen stets mit derselben Oese von 3·4 ^{mg} Inhalt angelegt, für jede Platte stets nur eine Oese.



Bezeichnung des Röhrchens	Inhalt	Zahl der Colonieen			
		sofort bei der Aussaat	nach 3 Stunden	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
T 1	2 ccm actives Kaninchenserum	ca. 400 000	35	4	61 200
T 2	2 ccm Kaninchenserum inactiv. 1/2 Stunde bei 57°	ca. 380 000	∞	∞	∞
T 3	2 ccm Kaninchenserum inactiv. 24 Stunden bei 57°	397 000	∞	∞	∞
T 4	2 ccm actives Rinderserum	300 000	1	0	0
T 5	2 ccm Rinderserum inactiv. 1/2 Stunde bei 57°	400 000	∞	∞	∞
M 1	2 ccm act. Kaninchenserum	530	0	0	0
M 2	2 ccm Kaninchenserum inactiv. 1/2 Stunde bei 57°	585	0	0	0
M 3	2 ccm Kaninchenserum inactiv. 24 Stunden bei 57°	4000	5200	sehr viele	∞
M 4	2 ccm actives Rinderserum	3000	28	8900	∞
M 5	2 ccm Rinderserum inactiv. 1/2 Stunde bei 57°	1800	2000	8200	∞

Der Unterschied der Aussaaten von Typhus- und Milzbrandbacillen ist natürlich nicht so gross, als es nach der Colonieenzahl der Aussaatplatten scheinen könnte, weil hier ja die Milzbrandbacillenemulsion lange Fäden enthielt und so jede Colonie einer ganzen Reihe von Keimen entspricht. Dass die Aussaat in den Röhrchen M_1 und M_2 gegenüber den anderen mit Milzbrandbacillen beschickten Röhrchen so viel kleiner erscheint, darf nicht wundern; man beobachtet häufig bei derartigen baktericiden Versuchen, besonders mit Anthraxbacillen, dass die Aussaatplatten aus stark baktericiden Medien erheblich weniger Keime zeigen als die aus guten Nährflüssigkeiten, offenbar weil schon in der kurzen Zeit, die man zur gleichmässigen Vertheilung der eingesäten Bacillen und zur Entnahme der Oese für die Platte bedarf, eine Abtödtung von Keimen stattfinden kann.

Vergleicht man das Wachsthum der Bakterien in den Röhrchen T_2 und M_2, so sieht man deutlich, dass in dem $^1/_2$ Stunde bei 57° inactivirten Kaninchenserum die Typhusbacillen sich sofort lebhaft vermehren, während die Milzbrandbacillen wie im activen Serum vernichtet wurden. Das hier verwendete Rinderserum hatte für Typhusbacillen sehr starke, für Milzbrandbacillen nur geringe abtödtende Kraft.

Nach meinen Erfahrungen muss man Kaninchenserum 24 Stunden bei 57° halten, wenn man sicher sein will, dass es jede schädliche Wirkung auf Milzbrandbacillen verloren hat; Conradi erreichte dasselbe durch wiederholte fractionirte Inactivirung bei 60°.



Wie meine Versuchsprotokolle zeigen, hat das Serum sehr vieler Kaninchen diese Eigenthümlichkeit: wir müssen also in diesen Fällen wohl annehmen, dass dasselbe ausser den Alexinen, welche ja durch halbstündiges Erwärmen auf 57° vernichtet werden, noch ein zweites, anderen Bakterien, wie z. B. den Typhusbacillen, unschädliches, Agens enthält, welches erst durch längere Wärmewirkung verschwindet. Es wäre aber unrichtig, nun zu folgern, dass die Alexine bei der Vernichtung der Milzbrandbacillen gar keine Rolle spielten; einerseits lässt sich dieses zweite Agens nicht in allen Kaninchenseris nachweisen, auch wenn sie kräftig abtödtende Wirkung auf Milzbrandbacillen haben (siehe Versuch III u. X); andererseits habe ich stets in dem auf 57° $^1/_2$ Stunde erwärmten Serum geringeres baktericides Vermögen auch für Anthraxbacillen gefunden als im normalen Kaninchenserum. Letzteres lässt sich natürlich nur bei nicht zu kleiner Einsaat feststellen (siehe Versuch VI und IX).

Was im Uebrigen meine Technik angeht, so ist nur noch Folgendes zu bemerken. Vor der Infection wurden den Kaninchen zwischen 20 und 25 ccm Blut aus der Arteria femoralis oder einer Ohrvene entzogen; als Infectionsmaterial diente entweder eine Emulsion von einer 24 stündigen Milzbrandcultur auf schrägem Agarröhrchen in 10 ccm Bouillon, so dass also 1 ccm = $^1/_{10}$ Agarcultur ist; oder eine gleichmässige, feine Verreibung der Milz eines an Milzbrand verendeten Meerschweinchens oder Kaninchens in 10 ccm Bouillon.

Wie Conradi habe ich das bei der zweiten Blutentziehung nach 24 stündigem Aufenthalt im Eisschrank gewonnene Serum fast stets steril gefunden, auch wenn das Blut grosse Mengen Milzbrandbacillen enthalten hatte; nur in Versuch XI enthielt auch das Serum zahlreiche Bacillen.

Versuch II.

Kaninchen, 3000 grm schwer, erhält nach Entnahme von 20 ccm Blut aus einer Ohrvene eine ganze 24 stündige Agarcultur subcutan.

Nach 24 Stunden: Thier munter, weder mikroskopisch noch culturell Bacillen im Ohrvenenblute nachweisbar.

Nach 48 Stunden: ebenso.

Nach 72 Stunden: moribund, sofort Operation, stirbt noch vor Eröffnung der Carotis; daher wird sofort die Brusthöhle eröffnet und aus dem noch pulsirenden rechten Ventrikel mit steriler Pipette ca. 10 ccm Blut entnommen; dasselbe enthält mikroskopisch zahlreiche Bacillen; auf Gelatineplatte mit 3 Oesen 72000 Colonieen.

Nach 24 Stunden baktericider Versuch; Einsaat: 2 Tropfen Bouillonemulsion von 24 stündiger Agarcultur.



Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach $3^1/_2$ Stund.	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	472	37	—	∞
2 ccm Serum inactivirt $^1/_2$ Std. bei 57°	392	112	792	∞
2 ccm Serum nach der Infection . .	536	2200	7900	∞

Dass das vor der Infection entnommene Serum keine kräftigere abtödtende Wirkung zeigte, kann nicht überraschen, da dasselbe bei Anstellung des baktericiden Versuches schon 4 × 24 Stunden alt war.

Versuch III.

Kaninchen, 3200 grm schwer, erhält nach Entziehung von 20 ccm Blut aus der Ohrvene 2 ccm Bouillonemulsion 24 stündiger Agarcultur intraperitoneal.

Nach 20 Stunden krank; im Ohrvenenblut Bacillen mikroskopisch nachweisbar; in 3 Oesen 12000 Keime; sofort Blutentziehung von 30 ccm aus der Carotis; † $^3/_4$ Stunde später.

24 Stunden später baktericider Versuch; Röhrchen im Bewegungsapparat. Einsaat 2 Tropfen Bouillonemulsion.

Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach 4 Stunden	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	729	2	1	20 000
2 ccm Serum inactivirt $^1/_2$ Std. bei 57°	1026	2100	31 500	∞
2 ccm Serum nach der Infection . .	882	22500	∞	∞

Versuch IV.

Kaninchen 2800 grm schwer; aus der Arteria cruralis 25 ccm Blut entzogen, gleich darauf 2 ccm Bouillonemulsion von 24 stündiger Agarcultur intraperitoneal injicirt.

Nach 19 Stunden: im Ohrvenenblut spärliche Bacillen mikroskopisch nachweisbar, sofort Blutentziehung aus der Carotis, stirbt $^1/_2$ Stunde nachher. In 3 Oesen des entzogenen Blutes 24000 Keime.

Beim baktericiden Versuch diente als Aussaat 1 Oese Herzblut eines soeben nach 18 Stunden der Milzbrandinfection erlegenen Meerschweinchens, in dem, wie sich nachträglich zeigte, nur relativ wenig Bacillen.

Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach 3 Stunden	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	0	0	0	0
2 ccm Serum inactivirt $^1/_2$ Std. bei 57°	0	0	0	0
2 ccm Serum nach der Infection . .	0	83	2700	∞

Versuch V.

Kaninchen, 2900 grm schwer, erhält nach Entnahme von 25 ccm Blut aus der Ohrvene 1·5 ccm Bouillonemulsion von der Milz eines mit Milzbrand getödteten Kaninchens intraperitoneal.

Nach 18 Stunden im Präparat von Ohrvenenblut zahlreiche Bacillen zu finden; auf Platte mit 3 Oesen 19800 Colonieen; sofort Blutentziehung aus der Carotis; † nach 5 Minuten.

Einsaat 1 Tropfen Bouillonemulsion von 24 stündiger Agarcultur Röhrchen im Bewegungsapparat.

Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach 4 Stunden	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	693	0	0	ca. 100000
2 ccm Serum inactivirt 3 Std. bei 57°	945	1400	∞	∞
2 ccm Serum nach der Infection . .	630	2600	∞	∞

Versuch VI.

Kaninchen, 2850 grm schwer, erhält nach Entziehung von 25 ccm Blut aus der Arteria cruralis 1·5 ccm Bouillonemulsion von der Milz eines soeben an Milzbrand verendeten Meerschweinchens.

Nach 22 Stunden im Ohrvenenblut mikroskopisch keine Bacillen: auf Platte mit 3 Oesen 103 Colonieen.

Nach 26 Stunden: krank, im Ohrvenenblut mikroskopisch wenige Bacillen; Blutentziehung, 25 ccm, aus der Carotis; † $1^1/_2$ Stunde später.

Beim baktericiden Versuch dienten als Einsaat 2 Tropfen Bouillonaufschwemmung von 24 stündiger Agarcultur; Röhrchen im Bewegungsapparat.

Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach 3 Stunden	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	392	1	0	0
2 ccm Serum inactivirt $^1/_2$ Std. bei 57°	783	3	2	1233
2 ccm Serum inactivirt 24 Std. bei 57°	560	1792	ca. 100000	∞
2 ccm Serum nach der Infection . .	783	7700	ca. 100000	∞

Versuch VII.

Kaninchen, ca. 2900 grm, erhält nach Entziehung von 25 ccm Blut aus der Arteria cruralis 2 ccm Bouillonemulsion einer 24 stündigen Agarcultur intraperitoneal

Nach 25 Stunden krank; Ohrvenenblut enthält reichlich Bacillen. Sofort Blutentziehung aus der Carotis, stirbt während der Operation.

Als Einsaat dienten beim baktericiden Versuch 3 Oesen Blut eines an Milzbrand verendeten Meerschweinchens, in welchem massenhaft Milzbrandbacillen. Röhrchen im Bewegungsapparat.



Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach 3 Stunden	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	1377	0	0	0
2 ccm Serum inactivirt 24 Std. bei 57°	1395	2358	14 500	∞
2 ccm Serum nach der Infection . .	1944	2560	50 000	∞

Diese 6 Versuche ergeben somit übereinstimmend das Resultat, dass das Blut dieser Kaninchen zur Zeit der zweiten Blutentziehung, als sich in ihrem Blute reichliche Milzbrandbacillen sowohl culturell als auch mikroskopisch nachweisen liessen, seine baktericide Kraft für Milzbrandbacillen völlig verloren hatte, so dass z. B. in Versuch IV selbst bei minimaler Einsaat rasche Vermehrung erfolgte.

Sehr instructiv scheinen mir die folgenden 3 Versuche, in denen es gelang, bei zweimaliger Blutentziehung nach der Infection die fortschreitende Abnahme des baktericiden Vermögens des Blutes zu beobachten.

Versuch VIII.

Kaninchen, 2800 grm schwer, erhält nach Entziehung von 25 ccm Blut aus der Arteria cruralis 1·5 ccm Bouillonaufschwemmung der Milz eines eben an Milzbrand verendeten Meerschweinchens intraperitoneal.

Nach 22 Stunden finden sich im Ohrvenenblut ziemlich zahlreiche Bacillen (auf 20 mikroskopische Gesichtsfelder ca. 2). Thier nicht munter. Sofort ca. 25 ccm Blut aus der Carotis entnommen.

Nach $22^{3}/_{4}$ Stunden Kaninchen sehr krank, im Präparat sehr viele Bacillen, in 3 Oesen Blut unzählige Keime. Erneute Blutentziehung aus der anderen Carotis. †.

Beim baktericiden Versuch Einsaat 2 Tropfen Bouillonemulsion von 24 stündiger Agarcultur. Röhrchen im Bewegungsapparat.

Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach 3 Stunden	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	1008	0	0	0
2 ccm Serum inactivirt 24 Std. bei 57°	560	17 920	ca. 100 000	∞
2 ccm Serum nach d. Inf.; 1. Entziehung	1395	8	15	630
2 ccm Serum nach d. Inf.; 2. Entziehung	676	11 700	ca. 100 000	∞

Während das 22 Stunden nach der Infection entnommene Blutserum noch kräftige (wenn auch bereits etwas verminderte) baktericide Wirkung für Milzbrandbacillen zeigte, hatte es $^{3}/_{4}$ Stunden später schon jede abtödtende Wirkung verloren.



Versuch IX.

Kaninchen, 2750 grm schwer, erhält nach Entnahme von 25 ccm Blut aus der Ohrvene 1·5 ccm Bouillonemulsion von der Milz eines an Milzbrand verendeten Kaninchens intraperitoneal.

Nach 16 Stunden im Ohrvenenblut mikroskopisch keine Bacillen nachweisbar; auf Platte mit 3 Oesen 3 Colonieen.

Nach 19 Stunden mikroskopisch keine Colonieen, in 3 Oesen 8 Keime.

Nach 24 Stunden im Präparat 1 Bacillus gefunden, auf Platte mit 3 Oesen 297 Colonieen; sofort Entziehung von 20 ccm Blut aus der Carotis.

Nach $25^1/_2$ Stunden im Präparat mehrere Bacillen nachweisbar, in 3 Oesen 4320 Colonieen. Nochmalige Blutentziehung aus der anderen Carotis; †.

Beim baktericiden Versuch Einsaat 2 Tropfen Bouillonemulsion von 24 stündiger Agarcultur. Röhrchen im Bewegungsapparat.

Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach 5 Stunden	nach 8 Stunden	nach 24 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	729	0	0	0
2 ccm Serum inactivirt ½ Std. bei 57°	450	0	0	ca. 100 000
2 ccm Serum inactivirt 3 Std. bei 57°	945	1400	∞	∞
2 ccm Serum nach der Infection . . (erste Entziehung)	513	0	0	0
2 ccm Serum nach der Infection . . (zweite Entziehung)	594	15	119	ca. 100 000

Versuch X.

Kaninchen, 3050 grm schwer, erhält, nachdem aus einer Ohrvene 25 ccm Blut entnommen, 2 ccm Bouillonaufschwemmung der Milz eines an Milzbrand verendeten Meerschweinchens subcutan.

Nach 8 Stunden weder mikroskopisch noch culturell Bacillen im Ohrvenenblut nachweisbar.

Nach 24 Stunden ebenso.

Nach 30 Stunden ebenso.

Nach 34 Stunden ebenso.

Nach 48 Stunden mikroskopisch keine Bacillen; auf Platte mit 3 Oesen 90 Colonieen.

Nach 56 Stunden im Präparat vereinzelt Bacillen; auf Platte mit 3 Oesen 2500 Colonieen. Sofort Entziehung von 30 ccm Blut aus der Carotis.

Nach 57 Stunden nochmalige Blutentziehung aus der Carotis, in 3 Oesen des entzogenen Blutes 4800 Colonieen. †.

Im baktericiden Versuch Einsaat 2 Tropfen Bouillonemulsion von 24 stündiger Agarcultur. Röhrchen im Bewegungsapparat.



Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach 4 Stunden	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	406	0	5	∞
2 ccm Serum inactivirt $^1/_2$ Std. bei 57°	1251	4100	∞	∞
2 ccm Serum inactivirt 24 Std. bei 57°	1480	∞	∞	∞
2 ccm Serum nach der Infection . . (erste Entziehung)	1233	10	8	558
2 ccm Serum nach der Infection . . (zweite Entziehung)	630	11	68	∞

In den letzten beiden Versuchen war also auch zur Zeit der zweiten Blutentziehung nach der Infection noch nicht der ganze Bestand des Blutes an Schutzstoffen zu Grunde gegangen, aber die Verminderung derselben gegen die erste Entziehung ist doch deutlich; dementsprechend hielt sich auch die Vermehrung der Bacillen im Blute in der Zeit zwischen den beiden Blutentziehungen nach der Infection noch in bescheidenen Grenzen.

Mit Rücksicht auf die Zahl der Colonieen nach 24 Stunden könnte man in Versuch X vielleicht von einer Vermehrung der baktericiden Kraft des Blutes zur Zeit der ersten Entziehung nach der Infection gegenüber dem vor der Infection entnommenen Blute reden, doch ist dabei zu bedenken, dass das normale Serum 57 Stunden älter war als jenes, so dass es wohl zweifellos schon einen Theil seines baktericiden Vermögens eingebüsst hatte.

Hieran schliesse ich noch einen Versuch, bei welchem das nach der Infection entzogene Blut keinen festen Blutkuchen lieferte und das Serum noch viele Bacillen enthielt; eine baktericide Wirkung liess sich auch so nicht feststellen.

Versuch XI.

Kaninchen, 2050 grm schwer, erhält nach Entziehung von 20 ccm Blut aus einer Ohrvene subcutan 2 ccm Bouillonemulsion der Milz eines soeben an Anthrax verendeten Meerschweinchens.

Nach 19, 24, 27 Stunden weder mikroskopisch noch culturell Bacillen im Ohrvenenblute nachweisbar.

Nach 48 Stunden mikroskopisch keine Bacillen, auf Platte mit 3 Oesen Blut 160 Colonieen.

Nach 51 Stunden Thier sehr krank, sofort Blutentziehung, stirbt während der Operation. In 3 Oesen des entzogenen Blutes 25000 Keime. Blut gerinnt sehr schlecht, das austretende Serum trüb.

Beim baktericiden Versuch Einsaat 1 Oese Herzblut eines eben an Anthrax verendeten Meerschweinchens.



Inhalt der Röhrchen	Zahl der Colonieen			
	sofort nach der Aussaat	nach 2 Stunden	nach 6 Stunden	nach 28 Stunden
2 ccm Serum vor der Infection . . .	14	0	0	0
2 ccm Serum inactivirt 1/2 Std. bei 57°	36	0	0	0
2 ccm Serum nach der Infection . .	5300	13900	∞	∞

Auf Grund der mitgetheilten Versuche glaube ich den Schluss ziehen zu dürfen, dass, in Uebereinstimmung mit dem von Szekely und Szana erhaltenen Resultate, die baktericide Kraft des Kaninchenblutserums in der Agonie, wenn das Blut mit Milzbrandbacillen überschwemmt ist, je nach dem Zeitpunkt der Blutentziehung entweder ganz verschwunden oder in schneller Abnahme begriffen ist; die Ansicht Denys' und Kaisin's bedarf nur insofern der Einschränkung, dass nicht schon im Augenblick der Einwanderung, „au moment de l'invasion", der Milzbrandbacillen das Blut seine baktericide Kraft eingebüsst hat, sondern dass erst jetzt die Abnahme derselben beginnt. Um dies zu verstehen, muss man sich nur eine richtige Vorstellung von dem Wesen der Milzbranderkrankung beim Kaninchen machen; dieselbe ist, wie auch Conradi sehr richtig hervorhebt, eine locale Erkrankung. Ganz unabhängig vom Infectionsmodus gelangen die Milzbrandbacillen schon sehr bald in die Capillaren der inneren Organe, besonders der Milz, welche ihnen wohl besonders günstige Wachsthumsbedingungen bieten müssen; bei der hier erfolgenden Vermehrung werden immer einzelne der aus den Capillaren in grössere Gefässe hineinwuchernden Bacillen vom Blutstrom losgespült und gelangen so in das circulirende Blut, wo sie theils durch die Schutzstoffe vernichtet werden, theils sich in neuen Capillargebieten derselben oder anderer Organe festsetzen. So bilden sich im Verlaufe der Erkrankung stets neue Infectionsherde, von welchen aus in immer stärkerem Maasse Bacillen in den Kreislauf gelangen, durch welche die Schutzstoffe des Blutes in immer grösserem Umfange unwirksam gemacht werden, bis schliesslich das Blut seine baktericide Kraft völlig verloren hat, womit erst den Bacillen ein wirkliches Wuchern auch im circulirenden Blute ermöglicht ist.

Es fragt sich nun, wie sich nach diesen Resultaten die so durchaus abweichenden Ergebnisse der Conradi'schen Versuche erklären lassen. Zunächst scheint Conradi die zweite Blutentziehung bei den meisten seiner Versuche zu früh vorgenommen zu haben; nur drei Mal erwähnt er, dass die Milzbrandbacillen auch mikroskopisch im Blute nachzuweisen waren; culturell aber „zahlreiche" Milzbrandbacillen nachzuweisen, ist bei Verwendung entsprechend grosser Blutmengen natürlich



leicht, auch zu einer Zeit, wo die baktericide Kraft des Blutes noch wenig oder gar nicht verändert ist. Leider macht Conradi über die Zahl der zur Zeit der zweiten Blutentziehung im Blute vorhandenen Bakterien keine genaueren Angaben. Für den Zeitpunkt der zweiten Blutentziehung scheint für Conradi in erster Linie das Auftreten der klinischen Symptome maassgebend gewesen zu sein; nach meinen Erfahrungen aber sind dieselben durchaus kein zuverlässiger Maassstab für den Gehalt des Blutes an Bacillen bezw. für den Eintritt der Agonie. Häufig bekommen die Kaninchen schon längere Zeit vor dem Tode Anfälle von Schwäche, so dass sie schwerathmend darniederliegen, und dann war ich erstaunt, mikroskopisch gar keine, culturell nur spärliche Bacillen in ihrem Blute zu finden und die Thiere sich wieder für einige Stunden erholen zu sehen. Andererseits traten diese Symptome häufig erst ganz kurze Zeit, zuweilen kaum $^1/_4$ Stunde vor dem Tode auf. Daher scheint mir auch die Eintheilung der Milzbranderkrankung in zwei „Perioden", wie sie Conradi macht, wenig glücklich; weder die klinischen Symptome, noch das Verhalten der Temperatur, noch der Bacillenbefund berechtigen dazu.

Auch die von Conradi ausschliesslich in Anwendung gebrachten kleinen Einsaaten scheinen mir gerade für die Erkennung einer eventuellen Abnahme der baktericiden Kraft des Blutes durchaus ungeeignet. Ist es doch klar, dass auf diese Weise eine mehr oder weniger hochgradige Verminderung der Keime manchmal verborgen bleiben und, wie im normalen Serum, eine vollständige Abtödtung eintreten wird, wenn nur der Rest der Schutzstoffe zur Vernichtung der eingebrachten wenigen Keime ausreicht.

Um aber seine Behauptung (3 S. 200): „dass, wenn die Milzbrandbacillen sich des Kreislaufs bemächtigt haben, die baktericide Kraft .... ungeschwächt fortbesteht", zu beweisen, hätte Conradi (in seiner zweiten Periode der Milzbrandinfection) wiederholte Blutentziehungen vornehmen müssen; die fortschreitende Abnahme der Schutzstoffe des Blutes würde ihm dann wohl nicht entgangen sein.

Uebrigens ist noch Folgendes zu beachten. Wir wissen eigentlich nicht, wodurch die Kaninchen bei der Milzbrandinfection getödtet werden; Toxine haben sich bisher einwandsfrei nicht nachweisen lassen, und das massenhafte Auftreten der Bacillen im Blute und die dadurch bedingten functionellen Störungen sind jedenfalls nicht immer die Todesursache, dafür ist die Zahl der beim Tode im circulirenden Blute sich findenden Bacillen oft zu gering. Es ist also möglich, dass bei einzelnen Thieren der Tod eintritt, bevor es zur Ueberschwemmung des Blutes mit Bacillen und damit zum Verschwinden der Schutzstoffe kommt, und in solchen

Fällen könnte auch das ganz kurz vor dem Tode entzogene Blut noch Schutzstoffe enthalten.

Nach dem Vorgange Wassermann's (16), dessen geistreiche Versuche die Bedeutung der Alexine für die Abwehr von Infectionen beim Meerschweinchen durch die Behandlung mit „Antimeerschweinchenalexin" bewiesen haben, versuchte ich, das Gleiche für die Milzbrandinfection des Kaninchens nachzuweisen.

Zu dem Zwecke wurde eine Hündin, 4000 grm schwer, während 5 Wochen mit wöchentlichen intraperitonealen Injectionen von im Ganzen 135 ccm frischen Kaninchenserums behandelt; dann wurden ihr aus der Arteria femoralis 80 ccm Blut entzogen, und dessen Blutserum nach vorheriger Inactivirung (1/2 Stunde bei 57°) auf die Bildung von „Antikaninchenalexin" untersucht. Die hämolytische Wirkung von 2 ccm Kaninchenserum auf 1 ccm verdünntes Meerschweinchenblut (1 : 5 NaCl-Lösung) wurde vollständig erst durch Zusatz von 2 ccm dieses Hundeserums aufgehoben, bei Zusatz von 1 ccm trat noch unvollständige Hämolyse ein. Ueber die Beeinträchtigung der baktericiden Wirkung wurde folgender Versuch angestellt.

Versuch XII.

Als Controle diente das ebenfalls 1/2 Stunde auf 57° erwärmte Serum eines gesunden, nicht vorbehandelten Hundes. Das Serum der mit Kaninchenserum vorbehandelten Hündin ist kurz als Antiserum bezeichnet. Als Einsaat diente in die mit *T* bezeichneten Röhrchen 1 Tropfchen verdünnter Typhusbouilloncultur, in die *M*-Röhrchen 2 Tropfen Bouillonemulsion von 24 stündiger Milzbrandagarcultur.[1] Alle Röhrchen wurden im Bewegungsapparat gehalten.

Bezeichnung der Röhrchen	Inhalt	Zahl der Colonieen			
		sofort nach der Aussaat	nach 3 Stunden	nach 7 Stunden	nach 24 Stunden
T_1	2 ccm Kaninchenserum + 2 ccm Antiserum	6700	∞	∞	∞
T_2	2 ccm Kaninchenserum + 2 ccm gewöhnl. Hundeserum	8800	49	297	∞
T_3	2 ccm inactivirtes Kaninchenserum 1/2 Stunde bei 57°	13100	∞	∞	∞
M_1	2 ccm Kaninchenserum + 2 ccm Antiserum	1230	3	10	ca. 100000
M_2	2 ccm Kaninchenserum + 2 ccm gewöhnl. Hundeserum	1197	0	0	0
M_3	2 ccm inactivirtes Kaninchenserum 1/2 Stunde bei 57°	2380	28	225	∞

[1] Das Kaninchenserum stammte natürlich für alle Röhrchen vom selben Thiere.



Ein Vergleich der mit Typhusbacillen und der mit Milzbrand inficirten Röbrchen zeigt das interessante Resultat, dass der Zusatz von 2 ccm Antiserum hinreichte, um dem Kaninchenserum jede baktericide Wirkung für Typhusbacillen zu nehmen, während dadurch die Wirkung auf Milzbrandbacillen zwar geschwächt, aber keineswegs aufgehoben wurde. Das Wachsthum der Milzbrandbacillen vollzog sich hier (M_1) ungefähr ebenso wie in dem $^1/_2$ Stunde bei 57° inactivirten Kaninchenserum (M_3); wir dürfen also hieraus wohl schliessen, dass sich im Blute der Hündin zunächst wirklich nur „Antialexin", dagegen kein Antikörper gegen das hitzebeständige, den Milzbrandbacillen schädliche Agens des Kaninchenserums gebildet hatte.

Da somit das Blut der Hündin nur eine geringe Menge von Antikörpern enthielt, wurde sie noch einen Monat lang mit wöchentlichen Injectionen von ca. 25 ccm Kaninchenserum behandelt und dann verblutet. Leider ging ein Theil des Serums verloren, so dass eine nochmalige Untersuchung über den Gehalt an Antialexin in vitro unterlassen werden musste, dagegen konnte ein Versuch am Thier gemacht werden.

Zwei gleich schweren (2850 grm) Kaninchen, bezeichnet A und C, wurden je 20 ccm Blut entzogen und dessen Serum auf seine baktericide Wirkung für Milzbrandbacillen untersucht, wobei eine sehr grosse Einsaat — 6 Tropfen der gewöhnlichen Bouillonemulsion — gewählt wurde, um bei eventuellem sehr starken baktericiden Vermögen noch Unterschiede feststellen zu können.

Nr.	Inhalt	Zahl der Colonieen			
		sofort nach der Aussaat	nach 4 Stunden	nach 8 Stunden	nach 24 Stunden
1	2 ccm Serum von Kaninchen A	8500	1500	ca. 100 000	∞
2	2 ccm Serum von Kaninchen C	8000	4000	ca. 100 000	∞

Das Serum von Kaninchen C hatte also ein, wenn auch nur wenig, schwächeres baktericides Vermögen für Milzbrandbacillen als das von A. Letzteres wurde deshalb mit dem Antikaninchenalexin enthaltenden Hundeserum behandelt, während C als Controlthier diente, und zwar auf Grund folgender Erwägung. Wie schon Lubarsch beobachtete (10 S. 135), stirbt von zwei Kaninchen, welche ceteris paribus mit derselben Menge Milzbrandbacillen von derselben Cultur inficirt werden, dasjenige zuerst, dessen Serum in vitro die geringste abtödtende Wirkung auf Milzbrandbacillen hat, so dass also „der Grad der Bacillenvernichtung des extravasculären Blutserums ein gewisser Gradmesser für die Empfänglichkeit des Thieres gegen Milzbrand ist." Ich kann dies auf Grund meiner Versuche durchweg bestätigen, und so stand es zu



erwarten, dass bei gleicher Quantität des Infectionsstoffes von den beiden Kaninchen, wenn überhaupt, C zuerst erliegen würde.

Zwei Tage nach dieser Prüfung erhielt also um 2 Uhr Nachmittags Kaninchen A 20 ccm des $^1/_2$ Stunde bei 57° inactivirten Antiserums intraperitoneal und gleich darauf 1 ccm Bouillonemulsion von 24 stündiger Milzbrandagarcultur intraperitoneal; C erhielt 20 ccm $^1/_2$ Stunde bei 57° inactivirten Serums eines gesunden, **nicht** vorbehandelten Hundes und 1 ccm derselben Bouillonemulsion intraperitoneal.

Nach 2 Stunden wurde bei beiden Kaninchen mit einer Pravaz'schen Spritze ein Tropfen Flüssigkeit aus dem Peritonealraum entnommen. bei A fanden sich in demselben sehr viele Milzbrandbacillen, bei C gar keine; das gleiche Ergebnis hatte eine nach 5 Stunden angestellte Untersuchung.

Am anderen Morgen 8 Uhr, also 18 Stunden post infectionem, wurde A todt vorgefunden, der Sectionsbefund ergab massenhaft Milzbrandbacillen im Blut und Peritonealflüssigkeit. C war munter und blieb **dauernd gesund.**

Ich glaube, dieser Versuch erlaubt den Schluss, dass die Schutzstoffe des Kaninchenblutes, welche C vor der Infection retteten, bei A durch die gleichzeitige Einverleibung des Antiserums gebunden und in ihrer Wirksamkeit gehemmt wurden, so dass die sich jetzt ungehindert schon im Peritonealraum vermehrenden Milzbrandbacillen in sehr kurzer Zeit den Tod des Thieres herbeiführten. Somit dürfte auch für die Milzbrandinfection des Kaninchens die ausschlaggebende Rolle der Schutzstoffe des Blutes bei der Vernichtung der eingeführten Bacillen, soweit dies durch **einen** Versuch geschehen kann, als bewiesen gelten. Lubarsch und sein Schüler Rosatzin sind also nicht berechtigt, diesen Schutzstoffen, deren Vorhandensein und Wirksamkeit im extravasculären Serum sie anerkennen, ihre Thätigkeit im Körper zu bestreiten. Wenn Lubarsch sich dabei immer wieder auf die viel geringere baktericide Wirksamkeit des circulirenden Blutes im Verhältniss zu der für das Serum desselben Thieres in vitro gefundenen beruft, so berücksichtigt er nicht genügend die gänzlich verschiedenen, für die Action der Schutzstoffe auf die eingeimpften Bakterien viel ungünstigeren Verhältnisse im Organismus. Während in vitro die eingesäten Bacillen der Wirkung der Gesammtmenge der in der betreffenden Menge Serum enthaltenen Schutzstoffe ausgesetzt sind, setzen sich auch bei intravenöser Infection die Bacillen sofort in den Capillaren der inneren Organe fest und sind hier, wie schon Buchner betont hat, vor den Schutzstoffen des Blutes relativ geschützt, wenn auch selbst hier noch viele von ihnen zu Grunde gehen werden; aber andererseits bleiben diese Eindringlinge doch auch keine gleichgültigen Gäste, sondern entfalten sofort ihre entzündungserregenden Eigenschaften, welche



zu einer Stase des Blutes in der betreffenden Capillare und dadurch zu einer Behinderung des Zutrittes von frischem Blut und somit von baktericiden Stoffen führen müssen. Bei der subcutanen Infection erkennen wir ja die eintretende Stase an ihrer Folgeerscheinung, dem starken entzündlichen Oedem, und auch in der Milz findet zweifellos ein ähnlicher Vorgang statt, wodurch ihre Vergrösserung und weiche Consistenz bei den Milzbrandthieren bedingt wird. Wenn nun Rosatzin (11 S. 103) in dem Umstand, „dass auf diese Weise dem Organismus seine physiologischen Eigenschaften nicht gestatten, die baktericide Wirkung seines Blutes zur vollen Wirkung zu bringen", einen Grund gegen deren Wirksamkeit überhaupt im Körper findet, so vergisst er, dass unser übliches Infectionsverfahren Anforderungen an den Organismus stellt, die unter natürlichen Verhältnissen wohl nie an ihn herantreten, weshalb wir nicht erwarten können, dass seine natürlichen Schutzeinrichtungen sich solchen unnatürlichen Angriffen gewachsen erweisen werden. Dass aber die Kaninchen im Allgemeinen vor den unter gewöhnlichen Bedingungen an sie herantretenden Gefahren gerade den Milzbrandbacillen gegenüber genügend geschützt sind, zeigt doch unsere Erfahrung, da bei ihnen spontaner Milzbrand nur recht selten vorkommt.

Das Ergebniss meiner Arbeit glaube ich in folgenden **Schlusssätzen** zusammenfassen zu dürfen:

1. Bei der Milzbrandinfection der Kaninchen tritt die Ueberschwemmung des Blutes mit Bacillen erst in der Agonie ein.

2. Während der Agonie ist, wenn sich bereits mikroskopisch Milzbrandbacillen in grösserer Zahl im circulirenden Blute nachweisen lassen, die baktericide Kraft desselben entweder schon ganz vernichtet oder doch in rapider Abnahme begriffen.

3. Ausser den Alexinen existirt im Blute der meisten Kaninchen noch ein zweites, nur (?) den Milzbrandbacillen schädliches Agens, welches nicht wie jene durch halbstündiges Erwärmen auf 57°, sondern erst durch längeren, 24stündigen Aufenthalt bei dieser Temperatur zerstört wird.

4. Im Blute eines Hundes, welcher längere Zeit mit Einspritzungen von activem Kaninchenserum behandelt wird, bildet sich „Anti-Kaninchenalexin"; ein mit diesem Antiserum behandeltes Kaninchen erliegt der gleichzeitigen Infection mit einer kleinen Menge Milzbrandbacillen, die für ein Controlthier unschädlich ist. Das betreffende Controlthier hätte unter sonst gleichen Verhältnissen wegen des vorher ermittelten geringeren Gehaltes seines Blutes an Schutzstoffen eher der Milzbrandinfection erliegen müssen. Durch diesen Versuch wird die ausschlaggebende Rolle, welche den Schutzstoffen des Blutes im Körper wie in vitro zukommt, auch für die Milzbrandinfection der Kaninchen erwiesen.



Litteratur-Verzeichniss.

1. J. Denys und A. Kaisin, *La Cellule*. 1893. T. IX. p. 337.
2. A. Bastin, *Ebenda*. 1892. T. VIII. p. 383.
3. H. Conradi, *Diese Zeitschrift*. 1900. Bd. XXXIV. S. 185.
4. R. Emmerich und O. Löw, *Ebenda*. 1899. Bd. XXXI. S. 1.
5. M. Hahn und L. Geret, *Zeitschrift für Biologie*. 1900. Bd. XL. S. 117.
6. S. Bonaduce, Ziegler's *Beiträge*. 1893. Bd. XII. S. 351.
7. L. Schneider, *Archiv für Hygiene*. 1897. Bd. XXVIII. S. 93.
8. G. Frank und O. Lubarsch, *Diese Zeitschrift*. 1892. Bd. XI. S. 259.
9. W. Kruse, Ziegler's *Beiträge*. 1893. Bd. XII. S. 333.
10. O. Lubarsch, *Untersuchungen über die Ursachen der angeborenen und erworbenen Immunität*. Berlin 1891.
11. Derselbe, *Zur Lehre von den Geschwulsten und Infectionskrankheiten*. Wiesbaden 1899.
12. A. v. Szekely und A. Szana, *Centralblatt für Bakteriologie*. 1892. Bd. XII. S. 61.
13. A. Hegeler, *Diese Zeitschrift*. 1901. Bd. XXXVII. S. 115.
14. K. Walz, Ueber die sogen. baktericide Eigenschaft des Blutserums u. s. w. *Arbeiten aus dem patholog. Institut in Tübingen*. Braunschweig 1899. IV. Heft 1.
15. O. Bail, *Centralblatt für Bakteriologie*. 1900. Bd. XXVII. S. 10.
16. A. Wassermann, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1901. Bd. XXVII. S. 4.
17. G. Sobernheim, *Diese Zeitschrift*. 1897. Bd. XXV. S. 301.

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Ueber das Vorkommen von tuberkelbacillenähnlichen Bakterien in menschlichen Fäces.

Von

Theodor Mironescu
aus Bukarest.

Kurze Zeit nachdem von Petri (1) und Rabinowitsch (2) säurefeste Bacillen in Butter und Milch gefunden waren, die mit dem Tuberkelbacillus nicht nur die Säurefestigkeit, sondern auch eine gewisse Aehnlichkeit der Gestalt gemein haben, beschrieb Moëller (3) ähnliche Bakterien, welche er von dem vielfach als Futter benutzten Timotheegras, ferner aus Kuhmist, sowie aus den Darmentleerungen von Kühen, Ziegen, Schweinen, Pferden, Mauleseln isolirte. Derartige säurefeste, dem Tuberkelbacillus ähnliche Stäbchen waren schon vor Jahren von Severin (4), Ferran (5), Capaldi[1] und Olt (6) im thierischen Mist, sowie im Darminhalt verschiedener Thiere gesehen worden, man hatte sie bereits von den in den Fäces tuberculöser Thiere vorkommenden echten Tuberkelbacillen zu differenziren gewusst, aber erst Moëller ist es, wie bereits gesagt, gelungen, dieselben in Reincultur zu erhalten.

Wenn auch nicht so häufig, so liegen doch in der Litteratur einige Beobachtungen vor, dass in den Fäces nicht tuberculöser Menschen ebenfalls alkohol- und säurefeste Bacillen gefunden wurden; es scheint aber, dass dieselben nie zu einer Verwechselung mit dem Tuberkelbacillus Veranlassung gegeben haben. In den letzten Jahren fanden wir einige Notizen über den Befund von solchen Bakterien in menschlichen Fäces bei Ferran (5) und Strasburger (7). Die Formen, die letzterer Autor beschreibt, haben aber so wenig Aehnlichkeit mit dem Tuberkelbacillus, dass wir dieselben trotz der Säurefestigkeit nicht zu den tuberkelbacillen-

[1] Citirt bei Rabinowitsch.



ähnlichen Bakterien zu zählen brauchen; eine Reincultur der beschriebenen Bakterien wurde von Strasburger nicht gewonnen.

Da, wie wir nunmehr gesehen haben, die Reincultur eines säurefesten tuberkelbacillenähnlichen Stäbchens aus menschlichen Fäces bisher nicht geglückt ist, scheint es mir nicht uninteressant zu sein, über einen derartigen Fall zu berichten.

Im Ausstrichpräparat aus dem Stuhle eines typhusverdächtigen Patienten, der auf der Krankenabtheilung des Instituts für Infectionskrankheiten lag, konnte ich eine nicht geringe Anzahl säurefester Bacillen, nach Ziehl-Neelsen gefärbt, nachweisen Die genannten Bacillen lagen in dem Präparat theilweise vereinzelt, theilweise in kleinen Häufchen angeordnet. Sie schienen etwas länger und vielleicht etwas dicker wie Tuberkelbacillen zu sein, einige waren gleichmässig roth, während andere wiederum die dem Tuberkelbacillus eigene Körnung zeigten. Im Grossen und Ganzen aber konnte man sie ohne grosse Schwierigkeiten von echten Tuberkelbacillen differenziren.

Auf Glycerinagarplatten, welche mit einer sehr verdünnten Fäcesemulsion bestrichen waren, wuchsen unter zahlreichen anderen Colonieen, allerdings erst am 4. bis 5. Tage, einige Colonieen, welche den Verdacht erweckten, dass es sich hier um die im mikroskopischen Präparat gesehenen säurefesten Bacillen handelte. Es waren weissliche, trockene, gerunzelte Colonieen, die unter dem Mikroskop eine strahlenförmige Anordnung zeigten. Diese Colonieen bestanden aus säurefesten Bacillen, welche die bereits im Präparat beschriebene Form aufwiesen. Die in Reincultur erhaltene Bakterienart wächst auf den gewöhnlichen Nährböden besser bei Brüt- als bei Zimmertemperatur. Die jungen Culturen haben ein feuchtes, glänzendes Aussehen, nach einigen Tagen ist die Agaroberfläche (besonders auf Agar ohne Glycerin) mit einer trockenen, stark gefalteten Membran bedeckt. In der zweiten Woche nimmt die Cultur eine röthliche Farbe auf Agar oder Zuckeragar an, während die Glycerinagarculturen erst später eine Farbstoffbildung zeigen.

Der Bacillus scheint Alkali zu bilden, Lackmusmolke wird nach 24 Stunden schon blau gefärbt, auf der Oberfläche bildet sich wie auf der Bouillon eine zarte runzliche Haut. Im Stich auf Zuckeragar cultivirt ist Tiefenwachsthum nicht bemerkbar.

Was die Säure- und Alkoholfestigkeit des isolirten Bacillus betrifft, so sind nach einer 5 Minuten langen Behandlung mit 33 procentiger Salpetersäurelösung vereinzelte Bakterien schon entfärbt, nach weiterer Behandlung mit 70 procentigem Alkohol entfärben sich bereits die meisten Individuen. Die Säurefestigkeit wird durch weitere Züchtung auf künstlichen Nährböden vermindert, während sie andererseits durch Thierpassage



wiederum erhöht wird. Der Bacillus lässt sich mit Methylenblau und nach Gram leicht färben, während er mit einer verdünnten Carbolfuchsinlösung schwer die Farbe annimmt.

Thierversuche wurden mit dem isolirten Bacillus an Meerschweinchen und weissen Mäusen angestellt. Intraperitoneal mit einer Aufschwemmung des Bacillus in sterilem Wasser oder Bouillon inficirte Meerschweinchen, welche nach 3 bis 4 Wochen getödtet wurden, zeigten bei der Section einen Abscess an der Impfstelle, in welchem nur vereinzelte Bakterien nachweisbar waren. Auf Leber und Milz fanden sich geringe Schwartenbildungen, die sich mikroskopisch aus bindegewebigen Elementen zusammensetzten.

Diese mit Reincultur inficirten Meerschweinchen nahmen Anfangs etwas an Gewicht ab, erholten sich aber wieder. Die Meerschweinchen jedoch, welche die säurefesten Bacillen in sterilisirter geschmolzener Butter aufgeschwemmt in die Bauchhöhle eingespritzt erhalten hatten, starben bereits nach 10 bis 14 Tagen und zeigten starke Verwachsungen des Peritoneums mit Leber, Milz und Harnblase. Die Mesenterialdrüsen waren geschwollen und zum Theil eitrig eingeschmolzen. Aus allen diesen Organveränderungen liessen sich die injicirten Bakterien wieder in Reincultur gewinnen.

Das Sectionsbild gleicht vollkommen der Beschreibung, die von verschiedenen Autoren bei den aus Butter isolirten säurefesten Bakterienarten gegeben worden ist. Die subcutan und intraperitoneal mit unserer Reincultur inficirten Mäuse starben oder blieben am Leben, je nach der Menge der eingespritzten Cultur.

Nach dem Gesagten besitzt der von mir isolirte Bacillus eine geringe Pathogenität, die aber gesteigert werden kann, wenn die Cultur in einem fetthaltigen Medium emulsionirt den Versuchsthieren eingespritzt wird. Dies stimmt vollkommen mit den Angaben derjenigen Autoren überein, die sich mit der Frage des Vorkommens von tuberkelbacillenähnlichen Bakterien beschäftigt haben.

Um die Stellung des aus Fäces gewonnenen Bacillus zu der Gruppe der säurefesten Pilze zu bestimmen, habe ich vergleichende Untersuchungen mit dem Butterbacillus von Rabinowitsch und dem kürzlich aus Nasensecret gezüchteten säurefesten Bacillus von Karlinski (8) angestellt. Hierbei ergaben sich im Grossen und Ganzen sehr geringe Unterschiede bezüglich der Gestalt und der Tinctionsfähigkeit derselben, die jedoch auch bei ein und derselben Cultur auf verschiedenen Nährböden und bei älteren und jüngeren Culturen beobachtet wurden, so dass ich nicht anstehe, die drei untersuchten Culturen für Varietäten einer Art anzusprechen. Es scheint auch, dass die zahlreichen säurefesten Bakterien, die bisher



aus Milch, Butter, Kuhmist u. s. w. gezüchtet worden sind, einer grossen Gruppe angehören, die sich vom Koch'schen Tuberkelbacillus sowohl in cultureller Hinsicht, wie ihren pathogenen Eigenschaften nach deutlich unterscheidet.

Eingehende vergleichende Untersuchungen dieser säurefesten Pilze sind in letzter Zeit von Ernst Schütz (9) und von Hölscher (10) ausgeführt worden. Während der Erstere in übersichtlicher Weise die morphologischen, tinctoriellen u. culturellen Eigenschaften der genannten Bakterien zusammenstellte, hat Hölscher die Pathogenität dieser Bakteriengruppe bestimmt.

Die früheren Befunde von säurefesten Bacillen beim Menschen [ich nenne die von Marzinowsky (11) aus den Krypten der Gaumenmandeln, von Karlinski in dem Nasensecret, von Rabinowitsch (12) in einem gangränösen Lungenherd] haben bereits ergeben, dass die genannten Bakterien in keiner Beziehung standen zu irgend einem Krankheitsprocess. Auch ich halte es für sicher, dass es sich auch in unserem Falle um einen zufälligen Befund von säurefesten Bakterien in den Fäces handelte, die wahrscheinlich mit der Nahrung aufgenommen den Darmcanal passiren. Diese Erklärung dürfte die einfachste sein, da ja die genannten Bakterien sehr häufig in der Milch und Butter vorhanden sind.

Zum Schlusse spreche ich Frau Dr. Lydia Rabinowitsch und Hrn. Dr. Kempner für ihre Unterstützung bei dieser Untersuchung meinen ergebensten Dank aus.

Litteratur-Verzeichniss.

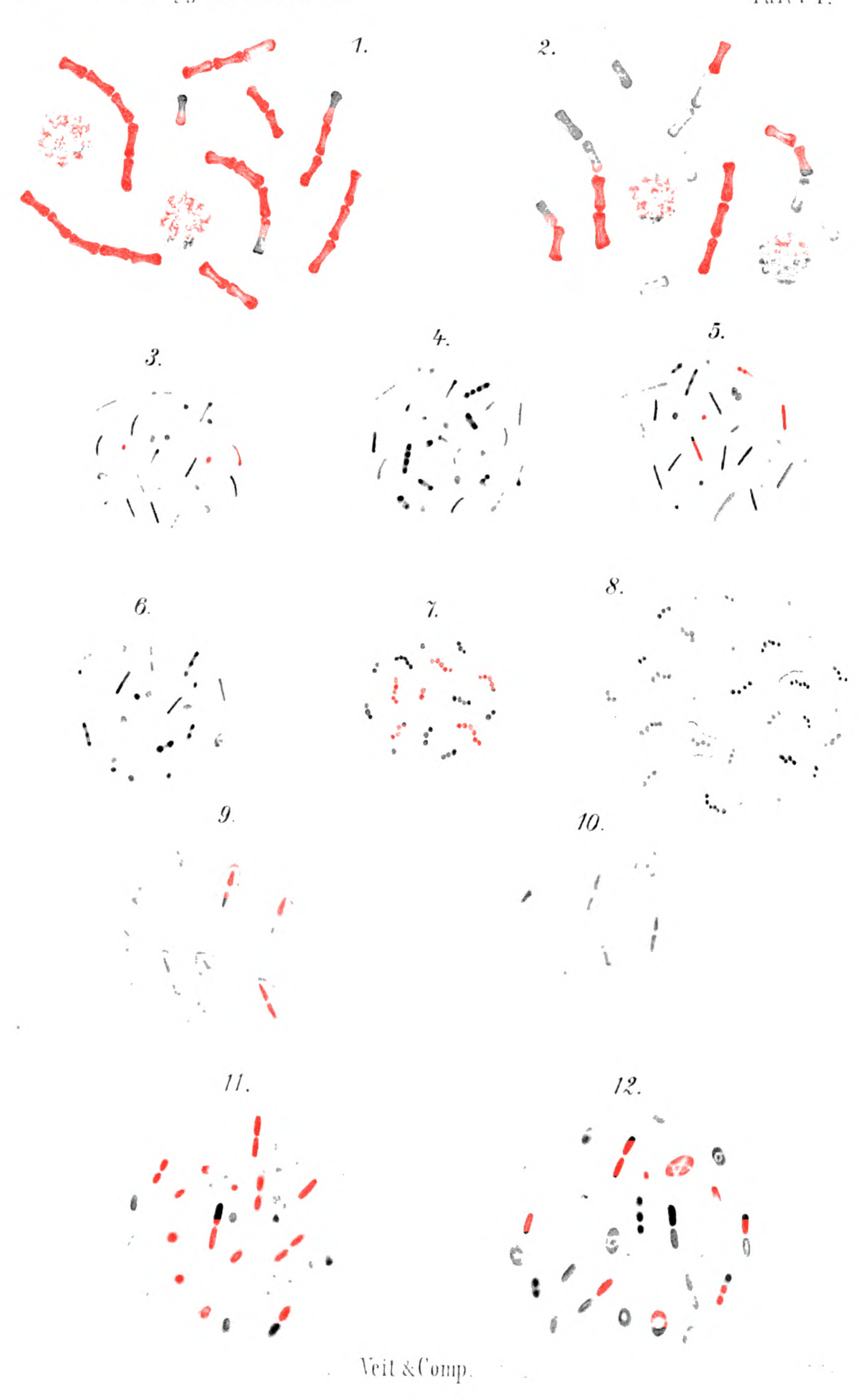
1. Rabinowitsch, *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXVI.
2. Petri, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1898. Bd. XIV. S. 1.
3. Moëller, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 24.
4. Severin, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1895. Abth. II. Bd. I. S. 97.
5. Ferran, Ref. *Ebenda.* Bd. XXII. S. 484.
6. Olt, Ref. *Ebenda.* Bd. XXV. S. 85.
7. Strasburger, *Münchener med. Wochenschrift.* 1900. S. 533.
8. Karlinski, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1901. Bd. XXIX.
9. Ernst Schütz, *Inaugural-Dissertation.* Heidelberg 1900.
10. Hölscher, *Experimentelle Untersuchungen mit säurefesten tuberkelbacillenähnlichen Spaltpilzen.* (Aus dem pathologischen Institut in Tübingen.) 1901.
11. Marzinowsky, Ueber einige in den Krypten der Gaumenmandeln gefundene Bacillenarten. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1900. Bd. XXVIII. S. 39.
12. Lydia Rabinowitsch, Befund von säurefesten tuberkelbacillenähnlichen Bakterien bei Lungengangrän. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 16.

Berichtigung.

S. 132 Zeile 1 ist statt 1892 zu lesen: 1899.

S. 133 Zeile 10 und 11 ist „doch“ vor „recht“ und „gern“ zu streichen.



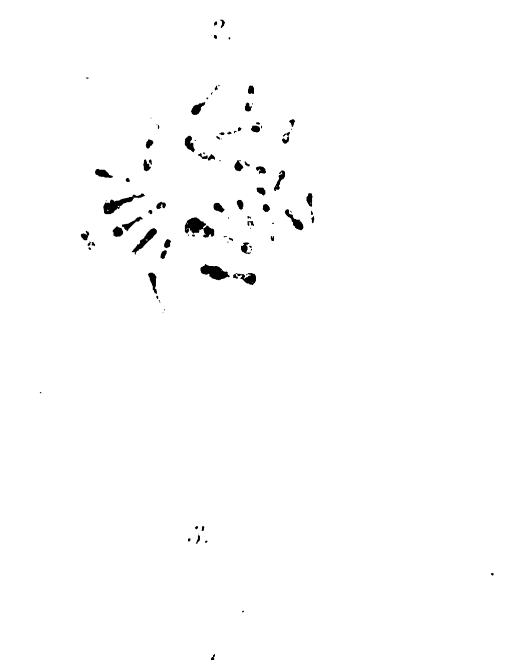


Veit & Comp.

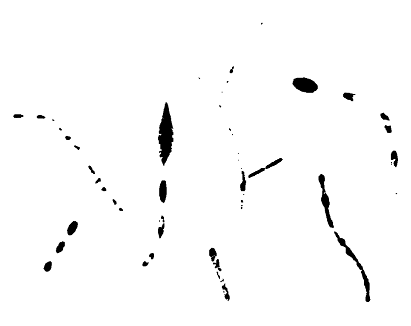
1.



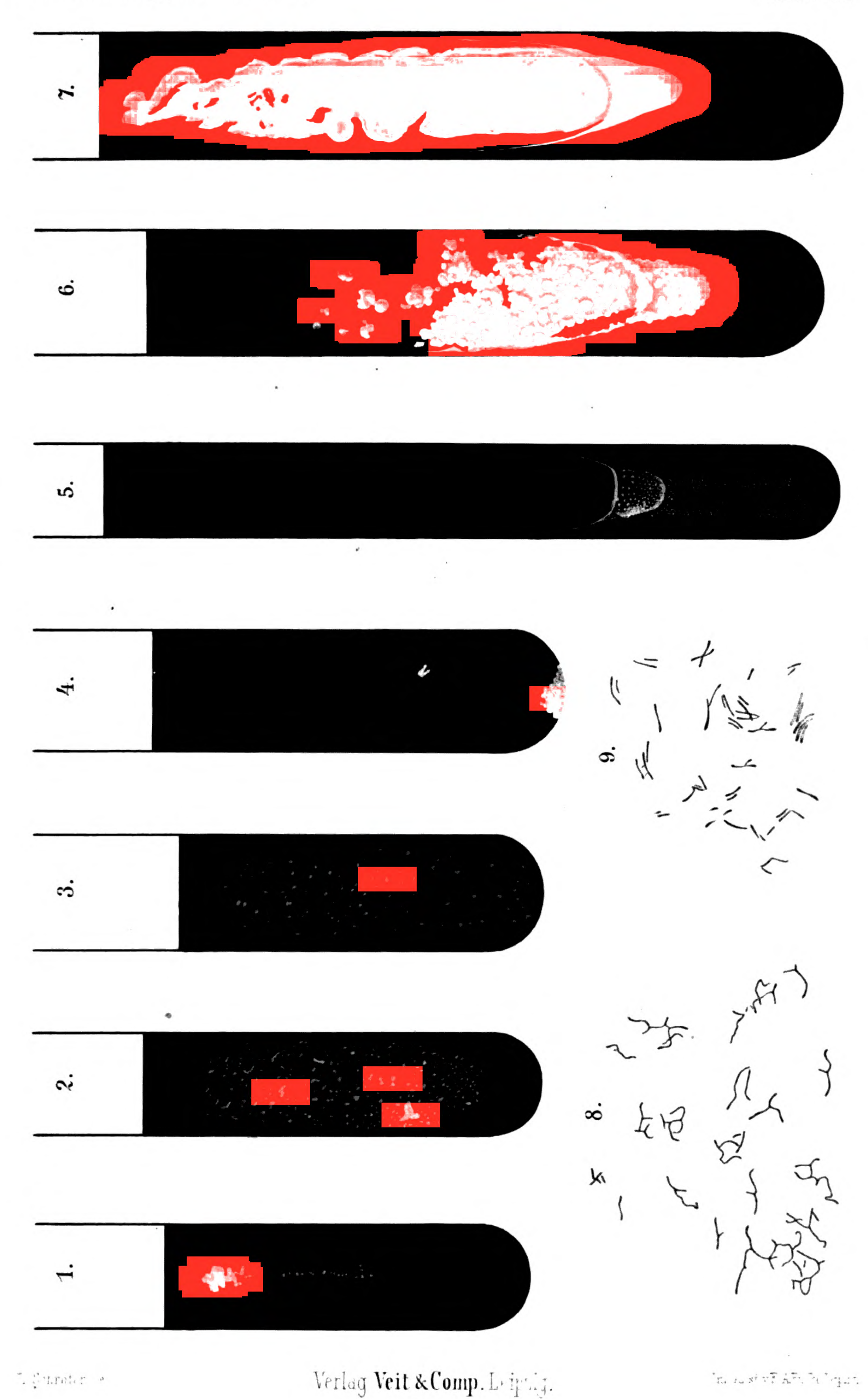
2.



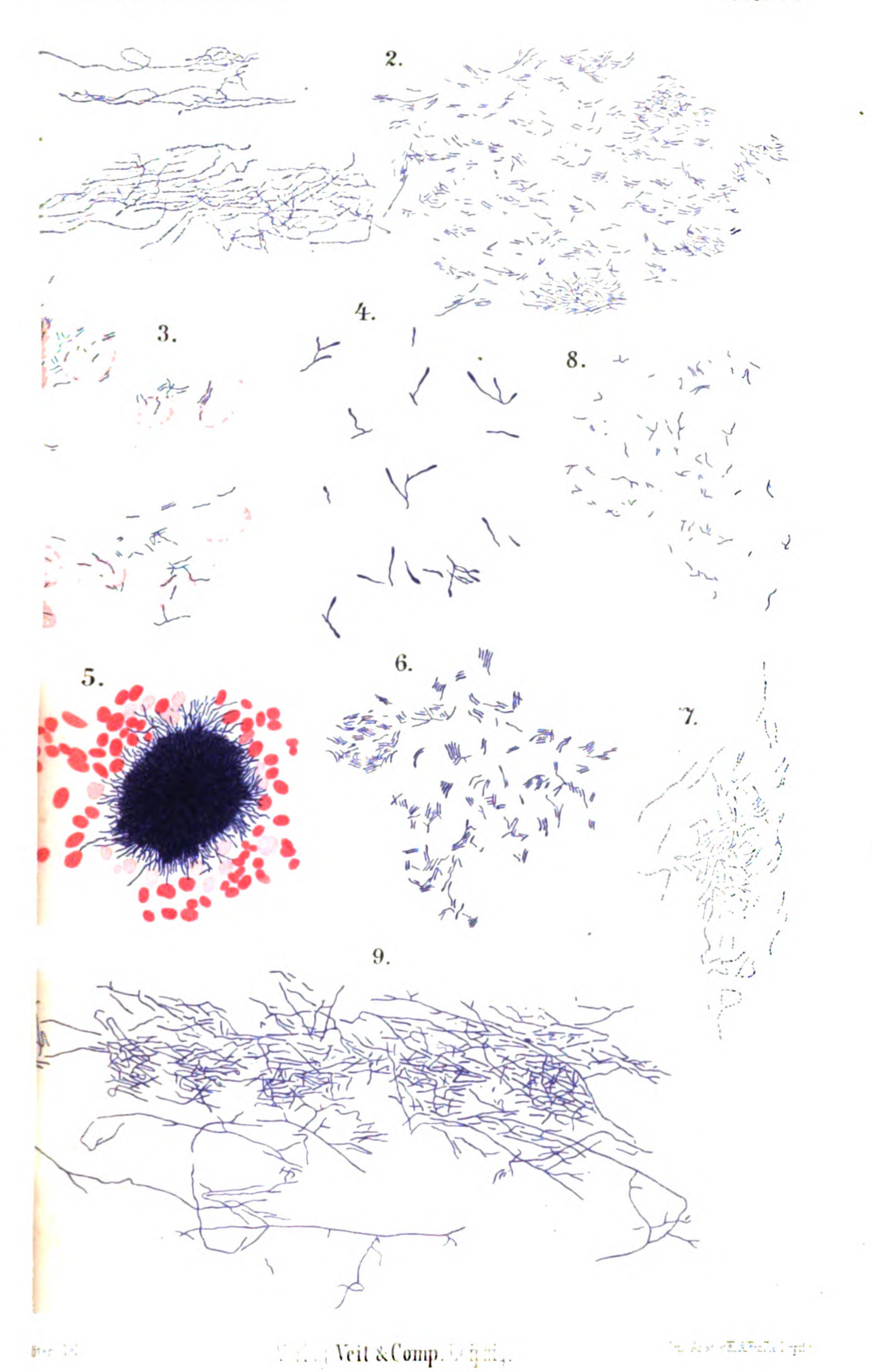
3.

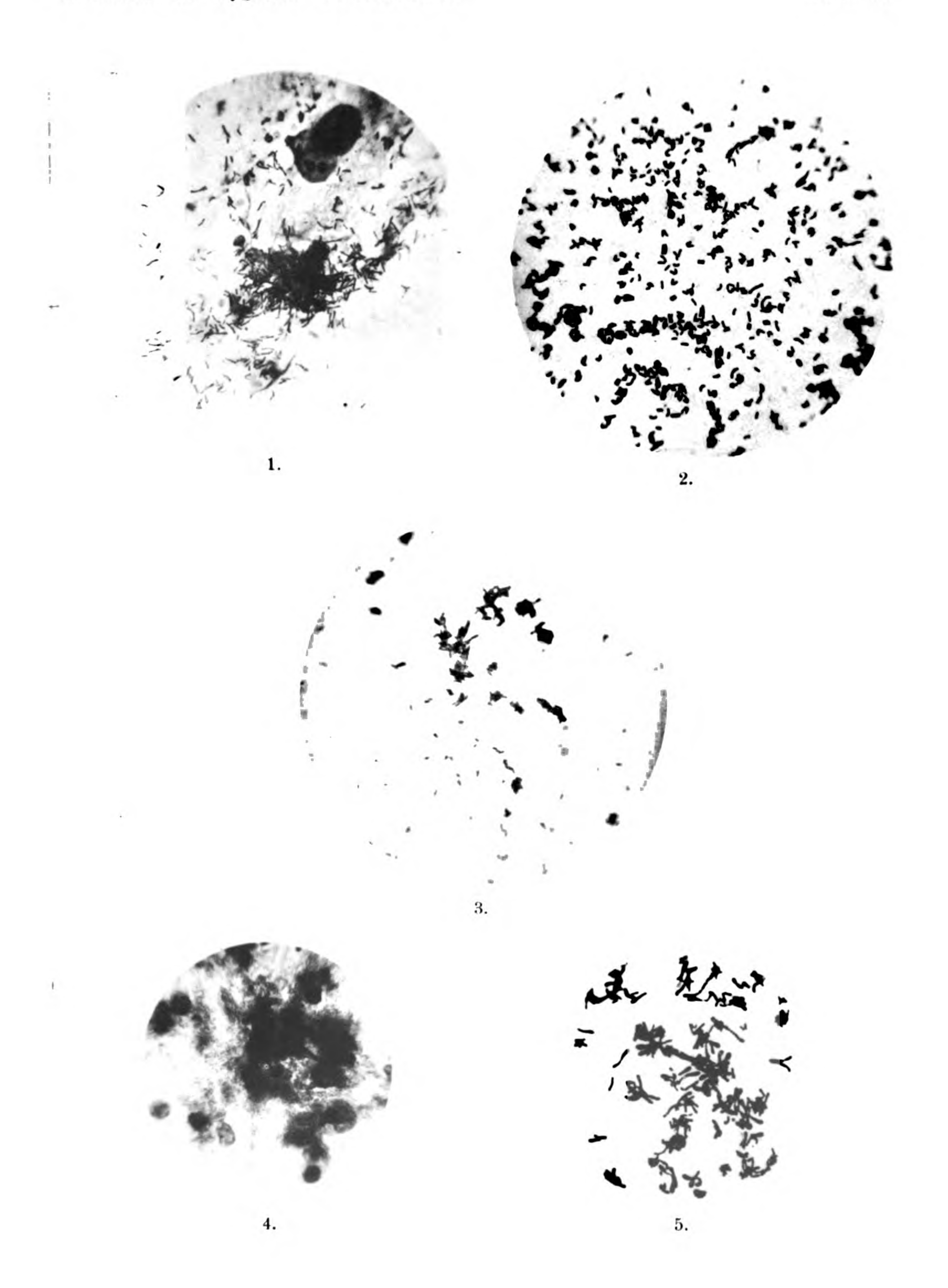


Veit & Comp.



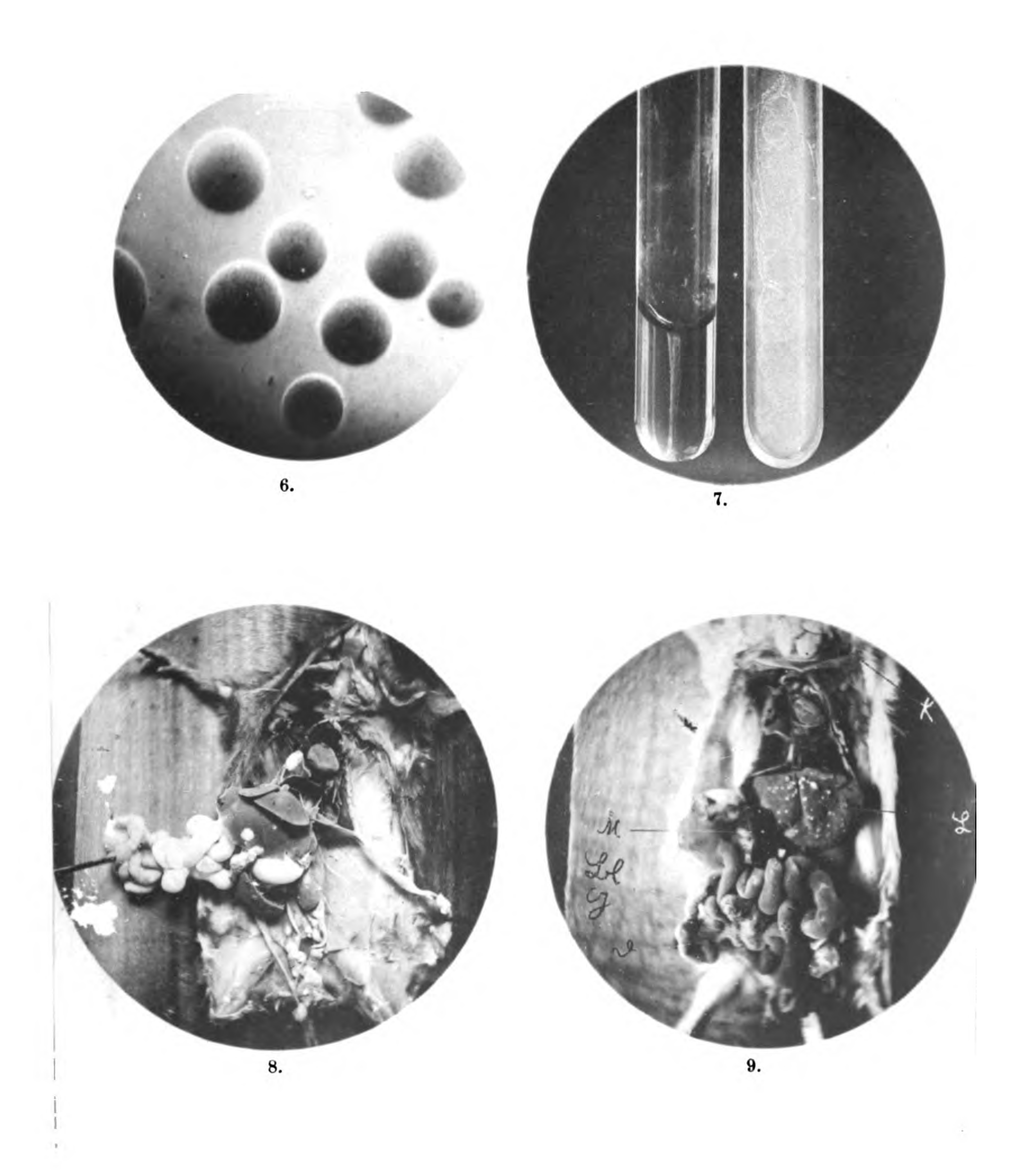
Verlag Veit & Comp. Leipzig.


2.
3.
4.
8.
5.
6.
7.
9.
Veit & Comp.



1. 2. 3. 4. 5.

Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.

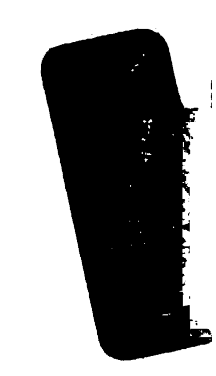


6. 7. 8. 9.

Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.



ST



12037



